Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

167. BAND, 3. HEFT

MIT 20 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 5. MAI 1959)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1959

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 167 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3

Originalabhandlungen

Seite

Kolšek, J., und M. Perpar, Über die Farbreaktionen einiger mehrwertiger Phenole mit p-Dimethylaminobenzaldehyd. Mit 5 Textabbildungen 161

Erdey, L., und G. Svehla, Analytische Anwendungen der ascorbinometrischen Bestimmung von Hexacyanoferrat(III) II. Mitteilung. Ascorbinometrische Bestimmung von freien Halogenen, Hypohalogeniten, Halogeniten und Halogenaten 164

Radmacher, W., und H. Hessling, Die Spurenelemente in Steinkohlen und ihre spektralanalytische Bestimmung. Mit 7 Textabbildungen 172

Mukerjee, H. G., Electro-Chromatography in the Study of Ions. Part III 182

Tandon, J. P., Studies in Bivalent Chromium Salts. Part VIII. Estimation of Nitro, Nitroso and Azo Compounds, Quinones and Carbohydrates with Chromous Sulphate 184

Yamaguchi, Sh., und T. Hori, Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der ferromagnetischen Beimengungen im austenitischen Stahl mit Hilfe der Elektronenbeugung. Mit 6 Textabbildungen 193

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Ljubljana, Jugoslawien

Über die Farbreaktionen einiger mehrwertiger Phenole mit p-Dimethylaminobenzaldehyd

Von

J. Kolšek und M. Perpar

Nach Versuchen von T. Kastelic

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Dezember 1958)

p-Dimethylaminobenzaldehyd gibt mit verschiedenen Phenolen in saurem Medium Farbreaktionen, die schon vor längerer Zeit zum qualitativen Nachweis der Phenole herangezogen worden sind[2]. In diesem Sinn reagieren u.a. Resorcin, Orcin, Phloroglucinol und Thymol. Die Farbreaktionen verschiedener mehrwertiger Phenole mit p-Dimethylaminobenzaldehyd wurden von Raciborski[5] beschrieben. Andererseits benutzten Lynn u. Lee[4] sowie Bevenue u. Williams[1] dieselben Farbreaktionen zum Nachweis von p-Dimethylaminobenzaldehyd. Über Farbreaktionen mehrwertiger Phenole mit Aldehyden im allgemeinen berichtet Korenman[3].

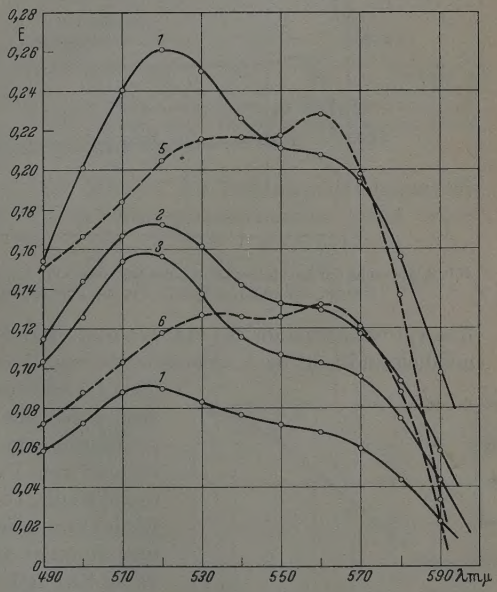


Abb. 1. Absorptionsspektrum des Reaktionsproduktes mit Resorcin, gemessen nach 2 min (Kurven bis *4*) bzw. nach 6 Std (Kurven *5* und *6*). *1* Konz. 62,5 μg/ml; *2* Konz. 31,2 μg/ml; *3* Konz. 28,3 μg/ml; *4* Konz. 5,75 μg/ml; *5* Konz. 55,2 μg/ml; *6* Konz. 15,5 μg/ml

Wir haben versucht, die Farbreaktionen zwischen p-Dimethylaminobenzaldehyd und Resorcin bzw. Phloroglucin zu einer quantitativen Bestimmungsmethode auszuarbeiten. Die

Versuche über den Kondensationsverlauf zwischen Phenolen und p-Dimethylaminobenzaldehyd sollen an einer anderen Stelle beschrieben werden.

Zur Ausführung der Farbreaktion benutzen wir dasselbe Reagens, das schon von Joachimowitz[2] vorgeschlagen worden ist; als Lösungsmittel haben sich Wasser und Äthanol bewährt. Sämtliche photometrische Messungen sind mit Spektralphotometer UNICAM in 1 cm-Küvetten durchgeführt worden.

Resorcin

Die Farbe, die sich bei der Reaktion zwischen Resorcin und p-Dimethylaminobenaldehyd bildet, ist unbeständig. Unmittelbar nach der Reagenszugabe zum Resorcin nimmt die Lösung eine rosarote Farbe an, deren

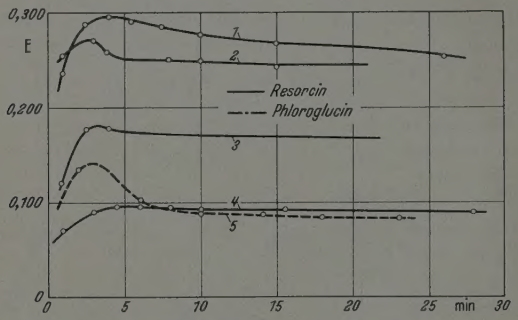


Abb. 2. Änderung der Farbintensität mit der Zeit. Resorcin: *1* Konz. 62,5 μg/ml; *2* Konz. 31,2 μg/ml; *3* Konz. 15,6 μg/ml; *4* Konz. 7,8 μg/ml. Phloroglucin: *5* Konz. 200 μg/ml

Absorptionsmaximum bei 518 mμ liegt. Die Farbe verändert sich allmählich und geht nach mehreren Stunden in ein beständiges Violettrot über, das Absorptionsmaximum verschiebt sich gegen 560 mμ (Abb. 1). Das Absorptionsmaximum ist von der Temperatur und vom Verhältnis Phenol/Reagens unabhängig. Die bei 518 mμ gemessene Extinktion nimmt während der ersten drei Minuten zu (Abb. 2), nach Ablauf dieser Zeit fällt sie dagegen wieder sehr langsam ab. Bei höheren Temperaturen wird das Maximum schneller erreicht. Bis zu einer Grenzkonzentration von 5 μg Resorcin/ml folgt die Lichtabsorption dem Beerschen Gesetz und die Farbreaktion kann innerhalb dieser Grenzen für die quantitative Bestimmung herangezogen werden (Abb. 3).

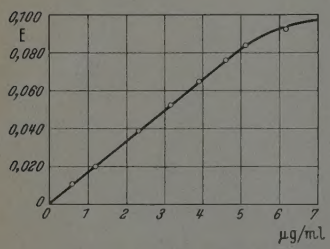


Abb. 3.
Eichkurve zur Resorcinbestimmung

Schon etwa 10 min nach dem Reagenszusatz ist die Abnahme der Farbintensität bei dieser Resorcinkonzentration so gering, daß die Messungen ohne größere Fehler durchgeführt werden können.

Arbeitsvorschrift. Zu 2 ml einer Resorcinlösung die bis zu 5 μg Resorcin/ml enthalten soll, werden 2 ml Reagens zugesetzt. Nach 30 min erfolgt die Messung. Das Absorptionsmaximum liegt bei 518 mμ.

Reagens. 0,5 g p-Dimethylaminobenzaldehyd wird in einem Gemisch von 8,5 g konz. Schwefelsäure und 8,5 ml Wasser gelöst.

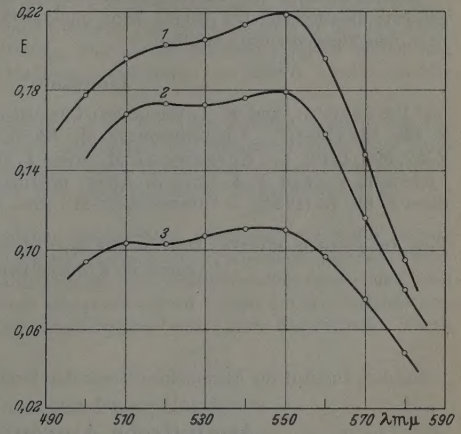


Abb. 4. Absorptionsspektrum des Reaktionsproduktes mit Phloroglucin. *1* Konz. 198 μg/ml; *2* Konz. 164 μg/ml; *3* Konz. 101 μg/ml

Phloroglucin

Phloroglucin liefert mit p-Dimethylaminobenzaldehyd ein rotgefärbtes Kondensationsprodukt, dessen Absorptionsmaximum bei 550 mμ liegt (Abb. 4). Die Farbintensität nimmt mit der Zeit etwas ab (Abb. 2), das Absorptionsmaximum bleibt jedoch

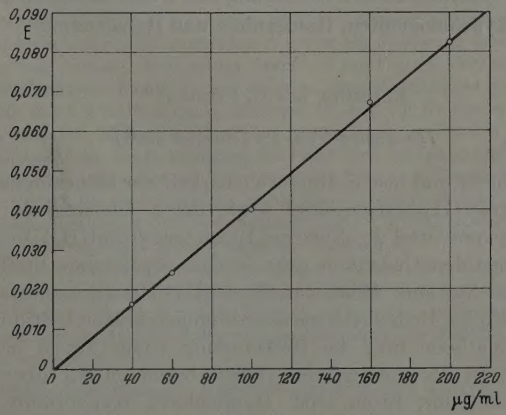


Abb. 5. Eichkurve zur Phloroglucinbestimmung

unverändert und ist vom Verhältnis Phenol/Reagens und von der Temperatur unabhängig. Die Abnahme der Farbintensität ist nach etwa

einer Stunde beendet. Die Gültigkeit des Beerschen Gesetzes bleibt bis zu einer Grenzkonzentration von 200 μg Phloroglucin/ml erhalten (Abb. 5).

Arbeitsvorschrift. Die Farbreaktion wird wie beim Resorcin angegeben durchgeführt; die Messung bei 550 mμ kann ohne größeren Fehler schon nach 20 min nach dem Reagenszusatz erfolgen.

Literatur

[1] Bevenue, A., and K. T. Williams: Chemist-Analyst **41**, 5 (1952); vgl. diese Z. **138**, 144 (1953). — [2] Joachimowitz, M.: Biochem. Z. **82**, 324 (1917); vgl. diese Z. **57**, 399 (1918). — [3] Korenman, I. M.: diese Z. **88**, 249 (1932); **93**, 438 (1933). — [4] Lynn, E. V., and F. A. Lee: J. Amer. pharmac. Assoc. **12**, 418 (1923); vgl. diese Z. **69**, 73 (1926). — [5] Raciborski, M.: Anz. Akad. Wiss. Krakau **1906**, 553.

Prof. Dr. Perpar Marija, Institut für org. Chemie der Universität Ljubljana, Vegova ul. 4 (Jugoslawien)

Aus dem Institut für Allgemeine Chemie der Technischen Universität Budapest

Analytische Anwendungen der ascorbinometrischen Bestimmung von Hexacyanoferrat(III)

II. Mitteilung*

Ascorbinometrische Bestimmung von freien Halogenen, Hypohalogeniten, Halogeniten und Halogenaten

Von

L. Erdey und G. Svehla**

(Eingegangen am 10. Dezember 1958)

Die Einfachheit und rasche Durchführbarkeit der ascorbinometrischen Hexacyanoferrat(III)-bestimmung[9] sowie deren Genauigkeit und das günstige Redoxpotential des Systems Hexacyanoferrat(III)-Hexacyanoferrat(II) legten den Gedanken nahe, einige oxydierende Stoffe in Anwesenheit des Systems Hexacyanoferrat(III)-Hexacyanoferrat(II) als eines vermittelnden Redoxsystems ascorbinometrisch zu bestimmen. Das Prinzip der Methode und die Bestimmung einige Ionen ist bereits beschrieben[10]. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über die Bestimmung von Chlor, Brom, Jod, Hypochlorit, Hypobromit, Chlorit, Bromat, Jodat und p-Toluolsulfochloramid(Chloramin T).

---

* I. Mitteilung: diese Z. **163**, 6 (1858).

** Teil der Dissertation von G. Svehla, Budapest, Technische Universität, 1959.

Reagentien und Lösungen

0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung wurde nach ERDEY u. BODOR[6] bereitet, indem man 8,9 g Ascorbinsäure in 1 l in Glasapparatur destilliertem Wasser löste. Zur Titerstellung versetzten wir 20 ml 0,1 n Kaliumjodatlösung mit 5 ml 2 n Salzsäure und wenig Kaliumjodid und titrierten das entstehende Jod bis zur Farblosigkeit mit der Ascorbinsäurelösung. Der Ascorbinsäuretiter mußte täglich neu bestimmt werden. Die 0,01 n Maßlösung bereiteten wir durch Verdünnen der 0,1 n Lösung.

2,6-Dichlorphenolindophenolindicator. Eine 0,1%ige wäßrige Lösung des Indicators konnte 3 Wochen hindurch aufbewahrt und benutzt werden. Man kann den Indicator auch in fester Form anwenden. Hierzu vermischten wir das 2,6-Dichlorphenolindophenol gründlich mit feingepulvertem Natriumchlorid im Verhältnis von 1:500.

Die Titerstellung der wie üblich hergestellten Lösungen von *Chlor*, *Brom*, *Natriumhypochlorit*, *Natriumhypobromit*, *Natriumchlorit*, *Kaliumtrijodid* und *Chloramin* erfolgte jodometrisch. *Kaliumbromat-* und *Kaliumjodatlösungen* stellte man aus vorschriftsmäßig vorbereiteten analytisch reinen Salzen durch Einwaage her. Kaliumhexacyanoferrat(II), Kaliumhydrogencarbonat und Kaliumjodid waren „purissimum"-Präparate.

Bestimmung von freien Halogenen

Hexacyanoferrat(II)-ionen werden in neutralem Medium durch Chlor[1,11], Brom[11,12] und Jod[14,15] quantitativ zu Hexacyanoferrat(III) oxydiert. Durch Titration der $[Fe(CN_6)]^{3-}$- Ionen mit Ascorbinsäurelösung können die Halogene bestimmt werden. Das neutrale Medium wird durch Zugabe von Kaliumhydrogencarbonat sichergestellt, welches auch zur Titration günstige Verhältnisse schafft.

Arbeitsvorschrift. Proben von Chlor- oder Bromwasser werden eingewogen, nur bei verdünntem Chlor- oder Bromwasser, ferner bei Jodlösung bzw. Jodtinktur ist Volummessung zulässig. Man bringt die 2—50 mg Cl_2, 12—200 mg Br_2 bzw. 150 bis 500 mg J_2 entsprechende Probenmenge in einen Erlenmeyer-Schliffkolben, den man vorher mit 1 g Kaliumhexacyanoferrat(II) und 2 g Kaliumhydrogencarbonat beschickt hat. Der Kolben wird sodann verschlossen und unter Schütteln etwa 1 min stehengelassen. Nach Auflösung der Salze wird die Lösung mit 1 ml 0,1%iger Dichlorphenolindolphenollösung (oder mit 0,5 g festem Indicatorgemisch) versetzt und man titriert die ursprüngliche grüne Lösung, die nach und nach blau wird, mit Ascorbinsäurelösung bis zur Farblosigkeit. 1 ml 0,1 n Ascorbinsäurelösung entspricht 3,546 mg Cl_2, 7,992 mg Br_2 bzw. 12,69 mg J_2.

Es ist verhältnismäßig schwer, gesättigtem Chlor- oder Bromwasser Proben ohne Halogenverlust zu entnehmen. Es empfiehlt sich daher, eine Stammlösung unter Verdünnung von 1:3 (durch Wägen) zu bereiten; man muß auf diese Art den Stöpsel der gesättigtes Halogenwasser enthaltenden Flasche nur einmal auf kurze Zeit entfernen.

Die Ergebnisse unserer Versuche sind in den Tab. 1, 2 u. 3 (S. 166) zusammengestellt.

Auf Grund dieser Analysen ergibt sich die Standardabweichung der Chlorbestimmung zu $\pm 0{,}8\%$, die der Brombestimmung zu $\pm 0{,}43\%$ und die der Jodbestimmung zu $\pm 0{,}35\%$. Die Standardabweichung des

Tabelle 1. *Chlorbestimmung*

Cl_2 mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäure maßlösung			
22,64	22,48	− 0,16	− 0,7
22,64	22,52	− 0,12	− 0,5
22,64	22,62	− 0,02	− 0,1
22,64	22,52	− 0,12	− 0,5
22,64	22,44	− 0,20	− 0,9
22,64	22,48	− 0,16	− 0,7
19,70	19,32	− 0,38	− 1,9
19,09	18,79	− 0,30	− 1,5
22,19	21,81	− 0,38	− 1,9
19,09	18,76	− 0,33	− 1,6
16,99	16,36	− 0,36	− 1,8
Titriert mit 0,01 n Ascorbinsäure-maßlösung			
2,26	2,27	+ 0,01	+ 0,4
2,26	2,27	+ 0,01	+ 0,4
2,26	2,28	+ 0,02	+ 0,9
2,26	2,27	+ 0,01	+ 0,4
2,26	2,28	+ 0,02	+ 0,9
2,26	2,29	+ 0,03	+ 1,3

Tabelle 2. *Brombestimmung*

Br_2 mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,01 n Ascorbinsäure-maßlösung			
133,95	135,14	+ 1,19	+ 0,90
133,95	134,10	+ 0,15	+ 0,11
133,95	134,58	+ 0,63	+ 0,47
133,95	134,82	+ 0,87	+ 0,65
133,95	134,50	+ 0,55	+ 0,41
133,95	135,14	+ 1,19	+ 0,90
120,11	120,67	+ 0,56	+ 0,47
107,61	107,09	− 0,52	− 0,49
93,85	94,38	+ 0,53	+ 0,56
122,12	122,19	+ 0,07	+ 0,06
130,07	129,86	− 0,21	− 0,16
103,01	103,89	+ 0,88	+ 0,87
Titriert mit 0,01 n Ascorbinsäure-maßlösung			
13,40	13,55	+ 0,15	+ 1,1
13,40	13,59	+ 0,19	+ 1,4
13,40	13,51	+ 0,11	+ 0,8
13,40	13,74	+ 0,34	+ 2,5
13,40	13,42	+ 0,02	+ 0,2
13,40	13,55	+ 0,15	+ 1,1

Tabelle 3. *Jodbestimmung*

J_2 mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäure-maßlösung			
256,9	257,1	+ 0,2	+ 0,08
256,9	257,0	+ 0,1	+ 0,04
256,9	257,1	+ 0,2	+ 0,08
256,9	257,1	+ 0,2	+ 0,08
256,9	257,0	+ 0,1	+ 0,04
256,9	256,9	± 0,0	0,00
211,5	211,9	+ 0,4	+ 0,2
183,0	183,7	+ 0,7	+ 0,4
288,6	288,0	− 0,6	− 0,2
239,8	239,5	− 0,3	− 0,1
348,2	346,4	− 1,8	− 0,5
202,8	202,7	− 0,1	− 0,05

Mittelwertes von 12 Parallelbestimmungen ergibt sich für Chlor zu $\pm 0{,}23\%$, für Brom zu $\pm 0{,}13\%$ und für Jod zu $\pm 0{,}10\%$. Zwischen diesen Mittelwerten und den Mittelwerten von 6 jodometrischen Parallelbestimmungen zeigte sich bei der Chlorbestimmung eine $0{,}59\%$ige, bei der Brombestimmung eine $0{,}61\%$ige und bei der Jodbestimmung eine $0{,}06\%$ige Abweichung. Die verhältnismäßig großen Streuungen der Brom- und Chlorbestimmungen lassen sich auf die Schwierigkeiten der Probenahme zurückführen. Streuungen von ähnlicher Größenordnung weisen auch die jodometrischen Chlor- und Brombestimmungen auf. Die Jodbestimmung läßt sich im 0,01 Maß nur mit ungefähr 3% Fehler durchführen.

Bestimmung von Hypochlorition

Hypochloritionen reagieren mit Hexacyanoferrat(II)-ionen in neutraler oder schwach saurer Lösung unter Bildung von Hexacyanoferrat(III)- und Chloridionen nach folgender Gleichung[3]:

$$2\,[Fe(CN)_6]^{4-} + 2\,H^+ + 2\,OCl^- = 2\,[Fe(CN)_6]^{3-} + 2\,Cl^- + H_2O.$$

Die entstandenen Hexacyanoferrat(III)-ionen lassen sich sodann mit Ascorbinsäurelösung titrieren. Da die Reaktion auch bei einer verhältnismäßig großen Hexacyanoferratmenge zeimlich langsam verläuft, empfiehlt es sich, der Lösung eine geringe Jodidmenge zuzufügen. In Anwesenheit von Jodidionen wird nämlich vorübergehend Jod frei, das mit Hexacyanoferrat(II)-ionen unter Jodidbildung rasch reagiert. Die Titration kann dann sofort durchgeführt werden; in Abwesenheit von Jodid titriert man erst ungefähr 10 min nach der Zugabe von Hexacyanoferrat(II).

Arbeitsvorschrift. Die etwa 15—100 mg Hypochlorit enthaltende Lösung wird mit 2 g Hexacyanoferrat(II) und etwa 0,2 g Kaliumjodid versetzt, mit 1—2 ml 2 n Salzsäurelösung angesäuert und bis zum Verschwinden der Jodfarbe umgerührt. Schließlich wird die Lösung mit 1 g Kaliumhydrogencarbonat und 1 ml 1%iger Dichlorphenolindophenollösung (oder 0,5 g festem Indicatorgemisch) versetzt und mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung bis zur Farblosigkeit titriert. 1 ml 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung entspricht 2,573 mg OCl^-.

Tabelle 4. *Hypochloritbestimmung*

OCl^- mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung			
52,14	52,08	— 0,06	— 0,12
	52,02	— 0,12	— 0,24
	52,17	+ 0,03	+ 0,06
	51,96	— 0,18	— 0,36
	51,96	— 0,18	— 0,36
	52,17	+ 0,03	+ 0,06
	52,25	+ 0,11	+ 0,22
	52,28	+ 0,14	+ 0,28
	52,17	+ 0,03	+ 0,06
	52,17	+ 0,03	+ 0,06
	51,99	— 0,15	— 0,30
	52,25	+ 0,11	+ 0,22
39,11	39,25	+ 0,14	+ 0,4
	39,28	+ 0,17	+ 0,4
	39,13	+ 0,02	+ 0,05
31,28	31,63	+ 0,35	+ 1,1
	31,46	+ 0,18	+ 0,5
	31,69	+ 0,37	+ 1,3
15,64	15,55	— 0,09	— 0,6
	15,58	— 0,06	— 0,4
	15,52	— 0,12	— 0,8

Einige Ergebnisse von Hypochloritbestimmungen sind in Tab. 4 zusammengestellt. Aus den ersten 12 Parallelbestimmungen errechnet sich die Standardabweichung zu $\pm 0{,}23\%$, während die Standardabweichung des Mittelwertes derselben Titrationen $\pm 0{,}07\%$ beträgt. Die Abweichung des Mittelwertes vom Sollwert beträgt etwa $0{,}04\%$. Die Titration läßt sich im 0,01 n Maß nur mit einem ungefähr 2%igen positiven Fehler durchführen.

Bestimmung von Hypobromition

Hypobromitionen reagieren analog den Hypochloritionen mit Hexacyanoferrat(II) unter Bildung von Hexacyanoferrat(III)-ionen[4].

Die Reaktion geht nur in schwach saurem Medium vor sich. Die entstehenden Hexacyanoferrat(III)-ionen lassen sich sodann mit Ascorbinsäuremaßlösung titrieren.

Tabelle 5. *Hypobromitbestimmung*

OBr^- mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung			
48,78	48,82	+ 0,04	+ 0,08
	48,54	− 0,24	− 0,48
	48,49	− 0,29	− 0,58
	48,54	− 0,24	− 0,48
	48,82	+ 0,04	+ 0,08
	48,87	+ 0,09	+ 0,18
	48,78	± 0,00	0,00
	48,54	− 0,24	− 0,48
	48,68	− 0,10	− 0,20
	48,78	± 0,00	0,00
	48,54	− 0,24	− 0,48
	48,68	− 0,10	− 0,20
32,52	32,61	+ 0,09	+ 0,27
	32,56	+ 0,04	+ 0,12
	32,71	+ 0,19	+ 0,57
24,39	24,46	+ 0,07	+ 0,28
	24,41	+ 0,02	+ 0,08
	24,56	+ 0,17	+ 0,68
16,26	16,31	+ 0,05	+ 0,30
	16,31	+ 0,05	+ 0,30
	16,40	+ 0,14	+ 0,84

Arbeitsvorschrift. Man versetzt die 15—100 mg OBr^- enthaltende, schwach alkalische Lösung mit 1 g Hexacyanoferrat(II) und 10 ml 2 n Salzsäure. Wenn auf Zusatz von wenig Kaliumhydrogencarbonat kein Brausen beobachtet wird, werden der Lösung weitere 10 ml 2 n Salzsäurelösung zugefügt. Der Kolben wird sodann verschlossen, sein Inhalt gründlich umgerührt und auf etwa 1—2 min beiseite gestellt. Hierauf wird die Lösung mit 1 g Kaliumhydrogencarbonat und 1 ml 1%iger Dichlorphenolindophenollösung (oder 0,5 g festem Indicatorgemisch) versetzt und mit Ascorbinsäuremaßlösung bis zur Farblosigkeit titriert. 1 ml 0,1 n Ascorbinsäurelösung entspricht 4,796 mg OBr^-.

Einige Ergebnisse von Hypobromitbestimmungen sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Die aus den ersten 12 Parallelbestimmungen errechenbare Standardabweichung ergibt sich zu ± 0,28%, während die Standardabweichung des Mittelwertes derselben Bestimmungen ± 0,08% beträgt. Die Abweichung des Mittelwertes vom Sollwert beträgt etwa 0,22%. Die Bestimmung läßt sich im 0,01 n Maß nur mit einem 3—4%igen Fehler durchführen.

Bestimmung von Chloritionen

Chloritionen üben in saurer Lösung ebenfalls eine oxydierende Wirkung auf Hexacyanoferrat(II)-ionen aus[2]:

$$ClO_2^- + 4\,[Fe(CN)_6]^{4-} + 4\,H^+ = Cl^- + 4\,[Fe(CN)_6]^{3-} + 2\,H_2O.$$

Da die Reaktion verhältnismäßig langsam vor sich geht, ist es zweckmäßig, in Anwesenheit von Jodidionen zu arbeiten.

Arbeitsvorschrift. Die zu untersuchende, in einem Erlenmeyer-Kolben mit eingeschliffenem Stöpsel befindliche, etwa 0,1 n Lösung wird mit 2 g Hexacyanoferrat(II), ein wenig Kaliumjodid und 10 ml 2 n Salzsäure versetzt. Man verschließt

den Kolben und läßt ihn einige Minuten stehen. Dann wird die Lösung mit Kaliumhydrogencarbonat neutralisiert (die etwa vorhandene schwache Jodfarbe verschwindet in diesem Falle völlig), mit 1 ml 1%iger Dichlorphenolindophenollösung (oder 0,5 g festem Indicatorgemisch) versetzt und mit 0,1 n Ascorbinsäurelösung bis zur Farblosigkeit titriert. 1 ml 0,1 n Ascorbinsäurelösung entspricht 1,687 mg ClO_2^-.

Einige Ergebnisse von Chloritbestimmungen sind in Tab. 6 zusammengestellt. Die Genauigkeit der Titration im 0,01 n Maß ist nicht befriedigend.

Tabelle 6. *Chloritbestimmung*

ClO_2^- mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung			
20,09	20,07	− 0,02	− 0,1
	19,99	− 0,10	− 0,5
	19,99	− 0,10	− 0,5
	20,07	− 0,02	− 0,1
	20,02	− 0,07	− 0,4
	20,07	− 0,02	− 0,1

Bestimmung von Bromation

Bromationen lassen sich unter geeigneten Bedingungen mit Ascorbinsäure direkt titrieren[6]. Man kann aber die Titration auch auf indirektem Wege durch Messung der Hexacyanoferrat(III)-ionen durchführen, die durch Wechselwirkung von Bromat mit Hexacyanoferrat(II) in saurem Medium qualitativ entstehen[13].

Arbeitsvorschrift. Die 10—100 mg BrO_3^- enthaltende Lösung wird mit 20 ml 2 n Salzsäure und 1 g Kaliumhexacyanoferrat(II) versetzt, wonach man den Kolben rasch verschließt und den Inhalt nach Verschwinden der Farbe des vorübergehend gebildeten Broms (1—2 min) mit 2—3 g Kaliumhydrogencarbonat neutralisiert. Nach Zugabe von 1 ml 1%iger Dichlorphenolindophenollösung (oder 0,5 g festem Indicatorgemisch) wird mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung bis zur Farblosigkeit titriert. 1 ml 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung entspricht 2,131 mg BrO_3^-.

Die Ergebnisse einiger Bromatbestimmungen sind in Tab. 7 zusammengestellt.

Tabelle 7. *Bromatbestimmung*

BrO_3^- mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung			
42,63	42,58	− 0,05	− 0,12
	42,62	− 0,01	− 0,02
	42,62	− 0,01	− 0,02
	42,58	− 0,05	− 0,12
	42,69	+ 0,06	+ 0,14
	42,56	− 0,07	− 0,17
	42,67	+ 0,04	+ 0,10
	42,62	− 0,01	− 0,02
	42,71	+ 0,08	+ 0,19
	42,60	− 0,03	− 0,07
	42,62	− 0,01	− 0,02
	42,67	+ 0,04	+ 0,10
31,97	31,94	− 0,03	− 0,1
	32,05	+ 0,08	+ 0,2
	32,00	+ 0,03	+ 0,1
25,58	25,55	− 0,03	− 0,1
	25,71	+ 0,13	+ 0,5
	25,71	+ 0,13	+ 0,5
12,79	12,81	+ 0,02	+ 0,2
	12,77	− 0,02	− 0,2
	12,77	− 0,02	− 0,2

Aus den ersten 12 Parallelbestimmungen errechnet sich die Standardabweichung zu ± 0,11%, während die Standardabweichung des

Mittelwertes dieser Titrationen $\pm 0{,}03\%$ beträgt. Zwischen Mittelwert und Sollwert zeigt sich keine Differenz. Im 0,01 n Maß läßt sich die Titration nur mit einem Fehler von etwa 2% durchführen.

Bestimmung von Jodation

Jodationen lassen sich unter geeigneten Versuchsumständen mit Ascorbinsäuremaßlösung direkt titrieren[7]. Man kann aber die Titration auch auf indirektem Wege durch Messung der mit Hexacyanoferrat(II) entstehenden Hexacyanoferrat(III)-ionen[5] durchführen. Da die Reaktion mit Hexacyanoferrat(II) ziemlich langsam vor sich geht (unter geeigneten Konzentrationsverhältnissen spielt sich eine Reaktion vom Typ der Landolt-Reaktion ab[5]), soll man nach Zugabe der Hexacyanoferrat(II)-ionen kurze Zeit warten.

Tabelle 8. *Jodatbestimmung*

JO_3^- mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung			
58,30	58,44	+ 0,14	+ 0,24
	58,47	+ 0,17	+ 0,29
	58,22	− 0,08	− 0,14
	58,28	− 0,02	− 0,03
	58,03	− 0,27	− 0,46
	58,50	+ 0,20	+ 0,34
	58,19	− 0,11	− 0,19
	58,30	± 0,00	0,00
	58,22	− 0,08	− 0,14
	58,45	+ 0,15	+ 0,26
	58,16	− 0,14	− 0,24
	58,33	+ 0,03	+ 0,05
43,73	43,65	− 0,08	− 0,18
	43,94	+ 0,21	+ 0,48
	43,99	+ 0,26	+ 0,69
34,98	35,12	+ 0,14	+ 0,40
	35,16	+ 0,28	+ 0,80
	34,71	− 0,27	− 0,76
17,49	17,63	+ 0,14	+ 0,8
	17,71	+ 0,22	+ 1,3
	17,79	+ 0,30	+ 1,8

Arbeitsvorschrift. Die etwa 20—100 mg Jodationen enthaltende Lösung wird mit 2 g Kaliumhexacyanoferrat(II) und nach dessen Auflösung mit 15 ml 2 n Salzsäure versetzt. Nach 2—4 min Wartezeit neutralisiert man die Lösung mit 4—5 g Kaliumhydrogencarbonat, wobei die etwa aufgetretene Jodfarbe verschwindet und die gelbe Farbe der Hexacyanoferrat(III)-ionen erscheint. Nach Zugabe von 1 ml 1%iger Dichlorphenolindophenollösung (oder 0,5 g festem Indicatorgemisch) titriert man bis zur Farblosigkeit. 1 ml 0,1 n Ascorbinsäuremaß-Lösung entspricht 2,915 mg JO_3^-.

Einige Ergebnisse von Jodatbestimmungen sind in Tab. 8 zusammengestellt.

Aus den ersten 12 Parallelbestimmungen errechnet sich die Standardabweichung zu $\pm 0{,}24\%$, während die Standardabweichung des Mittelwertes dieser Titrationen $\pm 0{,}07\%$ beträgt. Zwischen Mittelwert und Sollwert zeigt sich keine Differenz. Die Titration läßt sich im 0,01 Maß nur mit einem etwa 3%igen Fehler durchführen.

Bestimmung von Chloramin T

p-Toluolsulfochloramidnatrium kann man als ein stabilisiertes Hypochlorit betrachten, welches sich im Wasser zu Natriumhypochlorit und p-Toluosulfonsäureamid zersetzt:

$$CH_3-C_6H_4-SO_2-N\begin{matrix}Na\\Cl\end{matrix} + H_2O \rightarrow CH_3-C_6H_4-SO_2-NH_2 + NaOCl$$

In Anwesenheit von wenig Säure zersetzt sich das Chloramin T vollständig und die Lösung läßt sich wie Hypochlorit titrieren. Da die Reaktion verhältnismäßig langsam vor sich geht, soll man nach Zugabe von Hexacyanoferrat(II) eine Zeitlang warten (oder die Reaktion durch Kaliumjodidzugabe beschleunigen).

Arbeitsvorschrift. Die etwa 80—500 mg Chloramin T enthaltende Lösung wird mit 1 g Kaliumhexacyanoferrat(II) und 1—2 ml 2 n Salzsäure versetzt. (Die Acidität der Lösung wird durch Zugabe von wenig Kaliumhydrogencarbonat kontrolliert.) Der Kolben wird sodann verschlossen und auf 10 min beiseite gestellt. Hierauf neutralisiert man mit 1 g Kaliumhydrogencarbonat und titriert nach Zugabe von 1 ml 1%iger Dichlorphenolindophenollösung (oder 0,5 g festem Indicatorgemisch) mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung bis zur Farblosigkeit. 1 ml 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung entspricht 14,08 mg $CH_3C_6H_4SO_2NClNa$.

Einige Ergebnisse von Chloraminbestimmungen sind in der Tab. 9 zusammengestellt.

Aus den ersten 12 Parallelbestimmungen errechnet sich die Standardabweichung zu ± 0,2%, die Standardabweichung des Mittelwertes dieser Titrationen beträgt ± 0,06%, die Abweichung zwischen Mittelwert und Sollwert — 0,14%. Die Titration läßt sich in 0,01 m Maß nur mit einem 5%igen Fehler durchführen.

Tabelle 9
Bestimmung von Chloramin T

Chloramin T mg		Abweichung	
gegeben	gefunden	mg	%
Titriert mit 0,1 n Ascorbinsäuremaßlösung			
292,8	292,3	— 0,5	— 0,17
	292,0	— 0,8	— 0,27
	292,4	— 0,4	— 0,14
	293,1	+ 0,3	+ 0,10
	292,8	± 0,0	0,00
	291,5	— 1,3	— 0,44
	291,8	— 1,0	— 0,34
	292,5	— 0,3	— 0,10
	291,8	— 1,0	— 0,34
	293,1	+ 0,3	+ 0,10
	291,7	— 1,1	— 0,38
	293,2	+ 0,4	— 0,14
219,6	219,8	+ 0,2	+ 0,09
	219,1	— 0,5	— 0,23
	219,5	— 0,1	— 0,05
175,7	174,7	— 1,0	— 0,57
	175,4	— 0,3	— 0,17
	175,9	+ 0,2	+ 0,11
87,85	88,61	+ 0,76	+ 0,79
	88,60	+ 0,75	+ 0,78
	87,91	+ 0,06	+ 0,05

Zusammenfassung

Als Fortsetzung einer früheren Mitteilung[10] wird über die indirekte ascorbinometrische Bestimmung von freien Halogenen, Hypochloriten,

Hypobromiten, Chloriten, Bromaten, Jodaten und Chloramin T berichtet. Die Lösung dieser Oxydationsmittel wird mit überschüssigem Kaliumhexacyanoferrat(II) versetzt und die entstehenden Hexacyanoferrat(III)-ionen werden in Anwesenheit von 2,6-Dichlorphenolindophenol-Indicator mit Ascorbinsäuremaßlösung titriert.

Literatur

[1] Bong, G.: Bull. Soc. chim. France (2) **24**, 264 (1875). — [2] Bruni, G., u. G. Levi: Gazz. chim. ital. **45**, II, 161 (1915). — [3] Davy, E. W.: Philos. Mag. **VI**, 11 (1853). — [4] Donath, E., u. B. M. Margosches: Z. angew. Chem. **12**, 345 (1899). — [5] Eggert, J., u. B. Schamow: Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **27**, 455 (1921). — [6] Erdey, L., and E. Bodor: Analyt. Chemistry **24**, 418 (1952); vgl. diese Z. **137**, 293 (1952/53). — [7] Erdey, L., E. Bodor u. H. Buzás: diese Z. **134**, 22 (1951/52). — [8] Erdey, L., E. Bodor u. H. Buzás: diese Z. **134**, 412 (1951/52). — [9] Erdey, L., u. G. Svehla: diese Z. **150**, 407 (1956). — [10] Erdey, L., u. G. Svehla: diese Z. **163**, 6 (1958). — [11] del Fresno, C.: An. Soc. españ. Física Quím. **23**, 427 (1925). — [12] Kassner, G.: Chemiker-Ztg. **13**, 1701 (1889). — [13] Kolthoff, I. M., u. J. J. Vleeschhouwer: Recueil Trav. chim. Pays-Bas **45**, 923 (1926); vgl. diese Z. **73**, 233 (1928). — [14] Preuss, F.: Liebigs Ann. Chem. **29**, 319 (1839). — [15] Rupp, E., u. A. Schiedt: Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 2430 (1930).

Prof. Dr. L. Erdey und Dipl.-Ing. G. Svehla, Budapest XI, Gellért-tér 4 (Ungarn)

Aus dem Brennstoffchemischen Institut der Ruhrkohlen-Beratung G.m.b.H., Essen

Die Spurenelemente in Steinkohlen und ihre spektralanalytische Bestimmung

Von

Walter Radmacher und Hermann Hessling*

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 24. Dezember 1958)

Einführung

Über die spektralanalytische Bestimmung der Spurenelemente in Steinkohlen wurde schon verschiedentlich, vorwiegend im angelsächsischen Schrifttum, berichtet[1]. Meist war das Interesse an einigen in den Steinkohlen vorkommenden Spurenelementen — besonders an dem Germanium — maßgebend für eine Reihe rein analytischer Arbeiten. Daneben fanden sich derartige Untersuchungen im Rahmen größerer Arbeiten, z. B. auf dem Gebiet der Geologie oder Petrographie, bei denen

* Vortrag, gehalten von Dr. Hessling auf der Tagung der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Fachgruppe „Analytische Chemie", am 25. Oktober 1958 in Marburg an der Lahn.

die Spektralanalyse der Spurenelemente als Hilfsmittel eingesetzt wurde. Wenn auch der in Steinkohlen vorkommenden großen Anzahl von Spurenelementen in wirtschaftlicher Hinsicht wenig Bedeutung beigemessen wird, so dürfte doch das Wissen um den Gehalt und die Verteilung dieser Elemente in der Kohle für den Geologen, Petrographen und Markscheider wichtig sein, da sie unter Umständen für die Stratigraphie und Entstehung der Kohlenflöze wertvolle Hinweise geben können. Nicht zuletzt aber wird der Brennstoff-Analytiker daran interessiert sein, zu erfahren, welche Spurenelemente in der Kohle vorkommen, da er in gewissen Fällen seine analytischen Verfahren darauf abstellen muß.

Die quantitative Bestimmung eines *einzelnen* Elementes wird sich oft schneller und vielleicht genauer mit Hilfe von photometrischen, colorimetrischen oder polarographischen Verfahren durchführen lassen[8]. Die Spektralanalyse gestattet dagegen eine Auswertung aller nachweisbaren Elemente nebeneinander und ist auf Grund ihrer hohen Nachweisempfindlichkeit für qualitative Untersuchungen besonders geeignet.

Uns kam es im wesentlichen darauf an:

1. festzustellen, welche Elemente in den uns zur Verfügung stehenden Steinkohlen, in den einzelnen Gefügebestandteilen der Kohle, im Flugstaub, in Kesselansätzen und anderen vorkommen,

2. zu überprüfen, mit welchem Verfahren relativ schnell eine Übersicht über den Gehalt der vorkommenden Spurenelemente zu erhalten ist, und

3. ein Verfahren zu entwickeln, mit dem es möglich ist, den Gehalt der Steinkohlen an Spurenelementen mit einem annehmbaren relativen Fehler zu ermitteln.

Bei der qualitativen und quantitativen spektralanalytischen Bestimmung von Spurenelementen in festen Brennstoffen ist es unzweckmäßig, die Brennstoffsubstanz direkt der spektralanalytischen Anregung auszusetzen, da die gebräuchlichen Elektroden nur wenig Substanz aufnehmen und damit die absolute Spurenkonzentration sehr gering wird. Zudem verbrennt die Substanz, z.B. im Lichtbogen, schnell, ohne daß die für die Anregung der Atome notwendige Energie erreicht wird. Eigene Versuche, unmittelbar aus dem zu untersuchenden Material Elektroden zu pressen, haben nicht zum Ziel geführt, da die verschiedenen Leitfähigkeiten der Brennstoffe und die durch den schnellen Abbrand bedingte Veränderung des Elektrodenabstandes bei der Analyse stören. Es werden daher die Brennstoffe vor der Analyse einer vorsichtigen Veraschung unterworfen, die zugleich eine Anreicherung der zu bestimmenden Elemente bewirkt. Die Frage nach der Flüchtigkeit einiger Spurenelemente ist schon mehrfach dahin beantwortet worden, daß bei nicht zu hoher Temperatur und weitgehender Vermeidung einer reduzierenden Atmosphäre die Verluste durch Verdampfung sehr gering sind[2,10].

Methodik

Für die qualitative und halbquantitative Spektralanalyse wird die Brennstoffasche fein aufbereitet und mit Ammoniumchlorid und reinem Spektralkohlepulver im Verhältnis 2:1:1 gut gemischt. Das Ammoniumchlorid soll als „Bläserstoff[4]" während der Aufnahme verdampfen und die Asche in die Analysenstrecke tragen. Das Spektralkohlepulver verhindert das Zusammenschmelzen der Asche[7]. Ungefähr 10 mg der vorbereiteten Mischung werden in die Bohrung der in Abb. 1 dargestellten Elektrode aus Spektralkohle gegeben. Die Spektralkohlen werden vor dem Füllen durch einen kontinuierlichen Lichtbogen von Verunreinigungen, die z.B. durch Lagern und Berühren entstanden sind, befreit. Nach der Füllung werden sie im Exsiccator aufbewahrt.

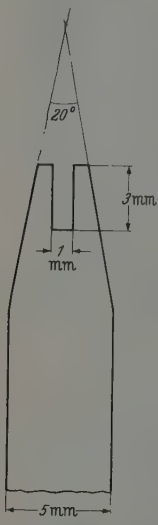


Abb. 1
Kohleelektrode

Geräte

Hilger-Glas-Quarz-Spektrograph E 478, Feussner-Funkenerzeuger, Pfeilsticker-Abreißbogengerät, Wechsel- und Gleichstrom als Anregungsquellen, Optica-Auswertegerät, Respektra-Rechengerät, Elektrodenpresse.

Qualitative Analyse

Für die qualitative Analyse verwenden wir zur Erzielung einer hohen Nachweisempfindlichkeit den Gleichstromdauerbogen. Belichtet wird 10 sec bei etwa 8 Amp. Bogenstromstärke. Eine Zwischenblende im Strahlengang läßt nur das Licht der Bogenstrecke in den Spektralapparat gelangen und blendet die Strahlung der glühenden Elektroden aus, die einen Untergrund im Spektrum bewirken und damit die Nachweisempfindlichkeit schwächen würde.

In der Asche der bisher von uns untersuchten Steinkohlenproben konnten folgende Spurenelemente nachgewiesen werden: Ag, As, Au, B, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Ga, Ge, In, La, Li, Mn, Mo, Nb, Nd, Ni, Os, Pb, Rh, Sb, Sc, Sn, Sr, Ti, V, Y, Yb, Zn und Zr. Einige der angegebenen Elemente waren nur in ausgesuchten Vitriten mit 0,2 bis 0,8% Asche und in Pechkoksproben mit einem Aschegehalt unter 1% nachweisbar.

Für die halbquantitative Analyse ist zur Anregung der Pfeilsticker-Abreißbogen geeigneter. Der Mischung Asche, Ammoniumchlorid und Spektralkohlepulver wird zudem noch ein Standardelement in Form eines gelösten Salzes hinzugegeben, und zwar jeder Analysenprobe die gleiche Menge des Standardelementes. Auf diese Weise werden Unterschiede in der Belichtung schnell erkannt und können bei der Auswertung berücksichtigt werden. Diese erfolgt entweder durch visuellen Vergleich oder durch Photometrieren, so daß bei dem halbquantitativen Verfahren angenähert die Größenordnung der Spurenelementkonzentrationen angegeben werden kann.

Quantitative Analyse

Nach der geschilderten Arbeitsweise haben wir für viele Elemente Eichkurven aufgestellt und zahlreiche Steinkohlenproben analysiert. Diese Untersuchungen lassen aber erkennen, daß für eine quantitative Analyse die Fehlergrenze zu hoch liegt und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu wünschen übrig läßt. Gründe für die wenig befriedigende Reproduzierbarkeit und für die zu hohe Fehlergrenze sind unseres Erachtens

die Inhomogenität der Kohlenasche und der Einfluß der in ihrer Konzentration stark variierenden Hauptbestandteile der Asche. Weiterhin kann auch keine genügend gleichmäßige Verteilung des den Proben zugegebenen Standardelementes erzielt werden.

Für die quantitative Analyse haben wir daher eine andere Art der Probenvorbereitung gewählt, die auch für die Untersuchung von Schlacken und Gesteinen angewandt werden kann. Die Asche wird mit Borax im Verhältnis 1:2,5 gemischt und die Mischung nach Zugabe des Standardelementes (400 mg Asche, 1000 mg Borax und 30 mg In_2O_3) im Platintiegel bis zur klaren Schmelze erhitzt. Bei Asche und Schlacken nimmt der Aufschluß etwa 2 Std in Anspruch, Gesteine benötigen eine längere Aufschlußzeit. Die erkaltete Schmelze wird gemörsert und mit Spektralkohlepulver im Verhältnis 1:1,5 vermischt. Etwa 200—250 mg dieser Mischung (Schmelze und Spektralkohlepulver) werden in einem Preßgesenk unter Anwendung eines Druckes von 100 kg/cm² zu einer Elektrode von 200 mm Länge und einem Querschnitt von etwa 2×3 mm (Abb. 2) gepreßt. Die Elektrode besitzt eine derartige Festigkeit, daß sie gut in die Elektrodenhalter eingespannt werden kann. Angeregt wird mit dem Pfeilsticker-Abreißbogen bei einer Bogenstromstärke von 4 Amp. Der Abbrand für beide Elektroden beträgt nach einer Aufnahme ungefähr 20 mg.

Abb. 2
Elektrodenpreßling

Die Spektren werden nach dem leitprobenfreien Analysenverfahrenausgewertet. Auf jede Photoplatte wird außer den Spektren der Analysenprobe unter Zwischenschaltung eines Mehrstufenfilters ein Eisenspektrum aufgenommen, um für jede Platte eine Schwärzungskurve aufstellen zu können. Die Aufstellung der Schwärzungskurve beim Verwenden eines Mehrstufenfilters — wir benutzten ein 7-Stufenfilter — birgt immer einige beachtliche Fehlerquellen in sich.

1. Es ist schwierig, den Spektrographenspalt über die Länge der 7 Stufen gleichmäßig auszuleuchten.

2. Für das Zeichnen der Schwärzungskurve stehen nur wenige Punkte zur Verfügung, zwischen denen nicht genau genug interpoliert werden kann.

3. Meßfehler bei der Schwärzungsmessung können den Verlauf der S-Kurve fälschen.

Um diesen Schwierigkeiten zu begegnen, ist in neuerer Zeit von Churchill[3] ein Verfahren entwickelt worden, nach dem lediglich mit einem 2-Stufenfilter gearbeitet wird und bei dem die Punkte der S-Kurve über eine Vorkurve gefunden werden können. Wir haben diese Arbeitsweise in unsere Auswertung eingebaut, nachdem de Laffolie[6] in seiner Dissertation noch einmal auf die Vorzüge dieses Verfahrens hingewiesen hat. Da dieser Weg erkennbare Vorteile bringt, sei das Wesentliche herausgestellt. In dem Wellenlängenbereich, für den die S-Kurve gezeichnet werden soll, werden die Schwärzungen einer Anzahl von Linien in 2 Stufen gemessen (wir

benutzten die mittleren 2 Stufen im Spektrum). In einem Diagramm wird für jede gemessene Linie die Schwärzung in der starken Stufe gegen die der schwachen Stufe aufgetragen. In Abb. 3 ist eine solche Vorkurve dargestellt. Auf diese Weise können die drei angegebenen Fehlerquellen weitgehend ausgeschaltet werden, denn:

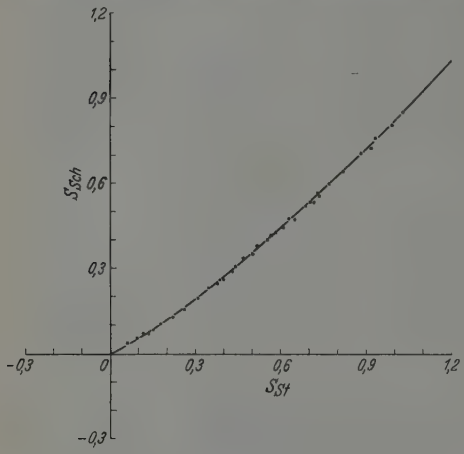


Abb. 3. Vorkurve zur Schwärzungskurve

1. kann der Spalt über beiden mittleren Stufen gleichmäßig ausgeleuchtet werden,

2. stehen durch die Vorkurve zum Zeichnen der S-Kurve eine Reihe von Punkten zur Verfügung, bei denen es sich um korrigierte Schwärzungswerte handelt,

3. wird die Streuung der Meßwerte ausgeglichen.

Da der Unterschied ΔY der beiden in Frage kommenden Stufen des Stufenfilters bekannt ist und nachgemessen werden kann (in unserem Falle $\Delta Y = 0{,}19$), ist es möglich, stufenweise aus der Vorkurve Punkte

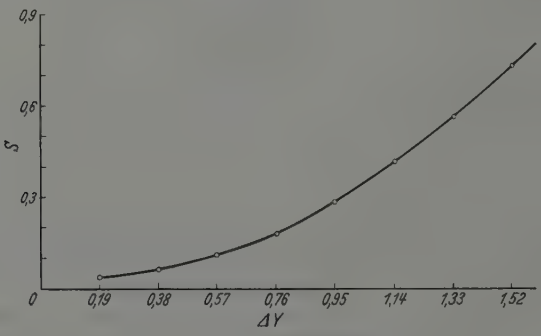


Abb. 4. Schwärzungskurve

der Schwärzungskurve zu erhalten, indem man für $Y = 0$ willkürlich einen kleinen Schwärzungswert annimmt (Abb. 4), z. B. $S = 0{,}02$. Zu $S = 0{,}02$ in der schwachen Stufe gehört gemäß der Vorkurve z. B. ein

Schwärzungswert 0,04 in der starken Stufe. Diese beiden Schwärzungswerte unterscheiden sich in der Intensität um $\Delta Y = 0{,}19$ (Filterstufe; 2. Punkt der Schwärzungskurve). Zu $S = 0{,}04$ in der schwachen Stufe gehört vielleicht ein $S = 0{,}06$ in der starken Stufe. So wird Punkt für Punkt der Schwärzungskurve aufgefunden.

Die Vorkurve bringt aber noch weitere Vorteile. Bei Anwendung des leitprobenfreien Analysenverfahrens ist man bestrebt, die Schwärzungskurve so zu transformieren, daß sie im unteren Bereich gradlinig wird, um auch schwächere Linien für die Auswertung und Analyse heranziehen zu können. Die Transformationskonstante $\varkappa$, mit der dann alle Schwärzungswerte transformiert werden müssen, wird nach KAISER[5a] rechnerisch ermittelt, und zwar aus 4 Schwärzungsmessungen ${}^aS_1$, ${}^aS_2$, ${}^bS_1$ und ${}^bS_2$ nach der Beziehung

$$\varkappa = \frac{\Delta^a S - \Delta^b S}{\Delta^a D - \Delta^b D}$$

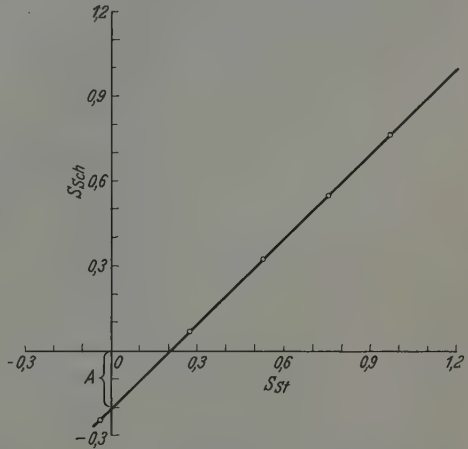


Abb. 5. Transformierte Vorkurve

${}^aS_1$, ${}^aS_2$, ${}^bS_1$ und ${}^bS_2$ erhält man durch Messung der Schwärzung zweier Linien (a und b) in 2 Stufen (1 und 2). D ist die Funktion $\log x - \log(x-1)$ und wird für jeden S-Wert aus der Tabelle abgelesen ($D = S - W$). Die erforderlichen 4 Schwärzungswerte können unmittelbar aus der Vorkurve entnommen werden, und zwar handelt es sich bei diesen Werten um — durch die Vorkurve — korrigierte Werte, bei denen ein etwaiger Meßfehler weitgehend ausgeschaltet wird.

Nun kann mit dem $\varkappa$-Wert aus obengenannter Beziehung auch die Vorkurve transformiert werden, und zwar schneidet diese transformierte Vorkurve im Diagramm die Abszisse unter einem Winkel von 45°, wenn der $\varkappa$-Wert richtig ist (Abb. 5).

Aus dem Achsenabschnitt A in Abb. 5 und dem Wert ΔY der beiden angewandten Stufen des Stufenfilters ermittelt man nach

$$\operatorname{tg} \gamma = \frac{A}{\Delta Y}$$

die Steilheit der später zu verwendenden Schwärzungskurve, so daß es in der Praxis nach einiger Übung nicht mehr nötig ist, aus der Vorkurve

erst die Schwärzungskurve aufzustellen und diese dann zu transformieren. Man zeichnet auf die Platte des Rechengerätes[5b], das sich für dieses Verfahren der Auswertung sehr gut bewährt, eine Gerade unter dem gefundenen Winkel und wertet anschließend mit dieser Schwärzungskurve aus.

Bei unseren Untersuchungen stellten wir für jede Platte 3 solcher Vorkurven auf, und zwar für die Bereiche 4100 Å, 3200 Å und 2900 Å.

Haupteichkurven

Die für die leitprobenfreie Auswerteverfahren benötigten Haupteichkurven für die einzelnen Spurenelemente gewannen wir durch die Untersuchung einer großen Anzahl von Testproben. Diese Proben stellten

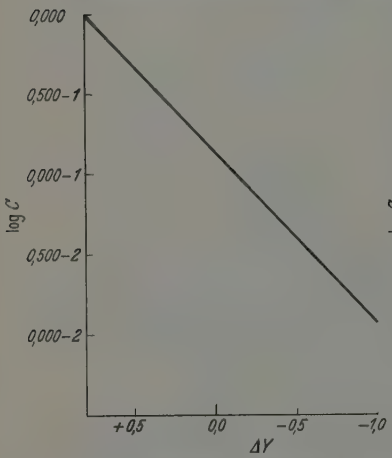


Abb. 6. Haupteichkurve für Nickel

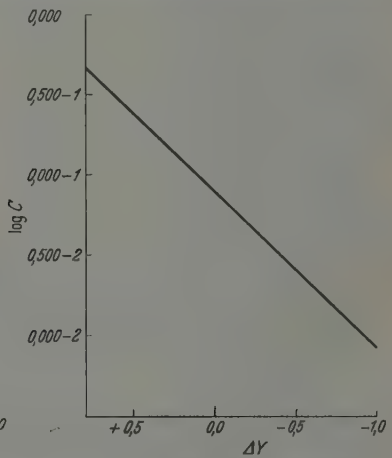


Abb. 7. Haupteichkurve für Kobalt

wir in der Weise her, daß wir Salze der Hauptkomponenten der Steinkohlenasche (Al, Fe, Si, Ca, Mg, Na und K) in unterschiedlicher Zusammensetzung vermischten und einige Stunden glühten. Den Mischungen wurden anschließend Salze der Spurenelemente in gelöster Form und in wechselnden Mengen zugegeben, so daß Testproben entstanden, die die Spurenelemente in verschiedenen Konzentrationen enthielten. Daneben wandten wir zur Herstellung weiterer Testproben das Additionsverfahren an. Wir gingen von natürlicher Kohlenasche aus, die die Spurenelemente in geringen Konzentrationen enthielt und gaben stufenweise Lösungen der Spurenelemente hinzu. Sämtliche Testproben wurden mit Borax aufgeschlossen, wie es schon oben für die Analysenproben beschrieben wurde.

Beide Arten der Testproben lieferten Werte für die Haupteichkurven (Abb. 6 u. 7), mit denen zufriedenstellend gearbeitet wurde.

Analysenlinien, Nachweisgrenzen

Die zur Aufstellung der Haupteichkurven herangezogenen Analysenlinien, die Linien des Standardelementes und die Schwärzungskurven für die Bereiche, in denen die Analysenlinien liegen, sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

Schwärzungskurve für den Bereich um (Å)	Analysenlinien	Photometrierte Linien des Standardelementes
4100	Ba 4554,042 Cr 4254,346 Sr 4077,714 Pb 4057,820 Mn 4034,490	gegen In 4101,773
3200	Ni 3492,956 Co 3453,505 Ti 3349,406 Zn 3345,020 Cu 3273,962 Ge 3269,494 V 3183,982 Sn 3175,019 Mo 3170,347 Be 3131,072	gegen In 3258,564
2900	Bi 3067,716 Ga 2943,637	gegen In 2932,624

Aus den Haupteichkurven wurden die in Tab. 2 zusammengestellten Nachweisgrenzen der einzelnen Spurenelemente bei dem von uns angewandten Aufnahme- und Auswerteverfahren ermittelt.

Tabelle 2. *Nachweisgrenzen von Spurenelementen in der Steinkohlenasche*

Ba	etwa 0,005%	Be	etwa 0,01 %
Bi	„ 0,01 %	Co	„ 0,005%
Cr	„ 0,005%	Cu	„ 0,005%
Ga	„ 0,01 %	Ge	„ 0,01 %
Mn	„ 0,003%	Mo	„ 0,01 %
Ni	„ 0,01 %	Pb	„ 0,02 %
Sn	„ 0,01 %	Sr	„ 0,005%
Ti	„ 0,01 %	V	„ 0,005%
Zn	„ 0,1—0,2%		

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei einigen in der Steinkohle immer vorkommenden Spurenelementen geht aus Tab. 3 (S. 180) hervor, in der die Streubereiche der Ergebnisse aus 50 Untersuchungen einer Mischasche aufgeführt sind.

Tabelle 3. *Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei der Spektralanalyse von Spurenelementen in der Steinkohle*

Ba ± 10%	Ti ± 21%	Ni ± 10%
Cr ± 10%	Zn ± 20%	Sr ± 10%
Mn ± 10%	Co ± 10%	V ± 16%
Pb ± 15%	Cu ± 25%	

Nach unserer Erfahrung wirkt sich diese Reproduzierbarkeit am meisten auf den Fehler einer Bestimmung aus, so daß der relative Fehler

Tabelle 4. *Vergleich zwischen spektralanalytisch und polarographisch ermittelten Werten für Co und Ni bei der Untersuchung natürlicher Ascheproben*

Ascheprobe	% Ni		% Co	
	spektr.	polarogr.	spektr.	polarogr.
A	0,09	0,088	0,06	0,053
B	0,08	0,090	0,03	0,027
C	0,06	0,064	0,03	0,024
D	0,06	0,061	0,02	0,021
E	0,06	0,063	0,03	0,023
G	0,08	0,073	0,04	0,048
H	0,07	0,064	0,03	0,036
I	0,07	0,064	0,02	0,019
J	0,07	0,064	0,02	0,019

ungefähr in der gleichen Größe angegeben werden kann. Eine Bestätigung findet sich in dem Vergleich zwischen spektralanalytisch und polarographisch ermittelten Werten für Co und Ni, wie Tab. 4 zeigt.

Korrelationen

Bei der Auswertung einer Analysenserie von 103 Kokskohleproben einer großen Anzahl von Zechen des Ruhrgebietes fiel auf, daß die Spurengehaltsänderungen von Probe zu Probe bei einigen Elementenpaaren ziemlich gleichmäßig verliefen. Wir prüften deshalb diese Beziehungen zwischen den Elementenpaaren durch Auswertung der betreffenden Analysenergebnisse nach der Beziehung für die Korrelation

$$r = \frac{\Sigma x \cdot y - \frac{\Sigma x \cdot \Sigma y}{n}}{\sqrt{\left[\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}\right] \cdot \left[\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n}\right]}}$$

r bedeutet die Korrelationskonstante, x und y entsprechen den Prozentzahlen der Elemente eines zu vergleichenden Paares in den Proben, n gibt die Anzahl der Proben an. r kann Werte von $+1$ bis -1 annehmen. Wird $r = +1$, so verhalten sich die beiden Elemente in ihrem Vorkommen

vollständig gleichläufig, bei $r = -1$ vollständig gegenläufig, bei $r = 0$ ist kein Zusammenhang zu erkennen. Bekommt r einen Wert im Bereich von

$$+\frac{2}{\sqrt{n}} \text{ bis } -\frac{2}{\sqrt{n}} \left(\text{in unserem Falle } \pm \frac{2}{\sqrt{103}} = \pm 0{,}2\right),$$

so kann keine Aussage zu der einen oder anderen Seite gemacht werden, da die Fehlermöglichkeiten der Analyse berücksichtigt werden müssen. Korrelationen für die Elementenpaare Zn-Pb, Ni-Co, Ti-V, Ba-Sr und Ba-Zn sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Tabelle 5. *Korrelationen*

Elemente x	Elemente y	Korrelationskonstante r
Zink	— Blei	0,854
Nickel	— Kobalt	0,807
Titan	— Vanadium	0,791
Barium	— Strontium	0,717
Barium	— Zink	— 0,222

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß r für die ersten vier Elementenpaare einen relativ hohen Wert annimmt. Für das willkürlich ausgewählte Paar Ba-Zn wird r negativ.

Zusammenfassung

Die Spurenelemente in Steinkohlen werden durch die Spektralanalyse der unter bestimmten Bedingungen gewonnenen Kohlenasche ermittelt. Die Probenvorbereitung für die qualitative, halbquantitative und quantitative Spektralanalyse und die Anregungsbedingungen für die drei Untersuchungsverfahren werden mitgeteilt.

Durch den Aufschluß des zu analysierenden Gutes mit Borax ist es möglich, auch Schlacken und Gesteine über die für die Kohlenasche aufgestellten Haupteichkurven spektralanalytisch zu untersuchen.

An Stelle der Schwärzungskurve wird aus etwa 50 Schwärzungsmessungen eine Vorkurve zur Schwärzungskurve aufgestellt, durch die eine bessere Transformation der Schwärzungskurve und eine genauere Bestimmung der Steilheit der transformierten Schwärzungskurve möglich wird. Eine Analysenserie von 103 Fettkohlenproben aus dem Ruhrgebiet erlaubt es, Korrelationen zwischen verschiedenen — in den Steinkohlen vorkommenden — Spurenelementen aufzustellen.

Analysenlinien, Nachweisempfindlichkeiten und relative Fehler für die einzelnen Elemente sind aufgeführt.

Literatur

[1] Aubrey, K. V.: Fuel **31**, 429 (1952). — Crossley, H. F.: Inst. of Fuel Wartime Bull. **1946**, 57. — Deul, M., u. C. S. Annell: Bull. geol. Soc. America **63**, 1243 (1952). — Gibson, F. H., u. W. A. Selvig: U.S. Bureau of Mines 1944, Techn. Paper 669, p. 10. — Goldschmidt, V. M.: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen **1930**, 398. — Goldschmidt, V. M., u. C. Peters: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen **1933**, 371. — Headlee, A. J. W.: Mining. Engng. **1953**, 1011. — Headlee, A. J. W., u. R. G. Hunter: Ind. Engng. Chem. **45**, 548 (1953); West Virginia geol. Survey Rept. 8, 1

(1951). — Horton, L., u. K. V. Aubrey: J. Soc. chem. Ind., J. Supp. Issue **1**, 41 (1950). — Leutwein, F.: Freiberger Forschungsh. C **30**, 28 (1956). — Leutwein, F., u. H. J. Rösler: Freiberger Forschungsh. C **10**, 68 (1954). — Monkhouse, A. C.: Colliery Engng. **1951**, 336. — Mukherjee, B.: Fuel **29**, 264 (1950). — Otte, M. U.: Chem. d. Erde **16**, 239 (1953). — [2] Aubrey, K. V., u. K. W. Payne: Fuel **33**, 20 (1954). — [3] Churchill, I. R.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **16**, 653 (1944). — [4] Hasler, M. F.: J. opt. Soc. America **31**, 140 (1941). — [5] Kaiser, H.: Spectrochim. Acta a) **3**, 159 (1947); b) **4**, 351 (1951). — [6] de Laffolie, H.: Diss. Münster 1955. — [7] Preuss, E.: Chem. d. Erde **9**, 365 (1935). — [8] Radmacher, W., u. W. Schmitz: Brennstoff-Chem. **38**, 308 (1957); vgl. diese Z. **163**, 46 (1958). — [9] Seith, W., u. K. Ruthardt: Tabelle zur Berechnung der Seideltransformation. Chemische Spektralanalyse, 4. Aufl. Springer-Verlag 1949. — [10] Waring, C. L., u. W. P. Tucker: Analyt. Chemistry **26**, 1198 (1954); vgl. diese Z. **147**, 378 (1955).

Direktor Dr. W. Radmacher, Essen, Schnutenhausstraße 25

Scottish Church College, Calcutta-6, India

Electro-Chromatography in the Study of Ions

Part. III*

By

Hari Gopal Mukerjee

(Eingegangen am 29. Dezember 1958)

Electro-chromatography which not even a decade ago satisfied only scientific curiosities, is now used as a method of analysis in analytical chemistry.

In a previous communication[4] the time migration distance relationship as well as classification of ions according to their relative speed of migration had been shown.

First part of the paper deals with the voltage migration distance relationship and the second part with the quantitative estimation of Nickel after electro-chromatographic migration in 0.5 molar tartaric acid medium.

It has been found that with the increase of voltage the speed of migration of the ions can be increased. With 50, 120, and 220 volts the migration rate of copper, cadmium and mercury ions had been studied. Even with 50 volts the separation of a mixture is possible, if the ions have markedly different mobility. Where the speed of migration of the ions is not very different the higher the voltage the better is the separation.

In the Table the distances in mm traversed by copper, cadmium and mercury ions in 0.1 N potassium chloride solution as the carrier electrolyte under the potential gradient of 50, 120 and 220 volts after 12 hours' run are recorded. The same apparatus was used and the same experimental

* Part II: See Z. analyt. Chem. **163**, 408 (1958).

procedure was followed as previously reported. One drop of the solution containing an amount of approximately 0.04 mg of the metal was used for the experiment.

Table

Ion migrated in 0.1 N KCl solution as the carrier electrolyte	Distances in mm traversed by the ions. A negative sign indicates migration towards the cathode and no sign (positive) towards the anode		
	50 volts	120 volts	220 volts
Hg	35 to 62	85 to 123	115 to 143
Cu	−42 to −74	−95 to −135	−125 to −147
Cd	−22 to −54	−39 to −73	− 74 to −112

Reproducible results depend entirely on the factors, such as, the size of the drop, concentration of the carrier electrolyte, the treatment and the wetness of the paper, the position of the strip, the quality of the paper, the temperature, voltage, the magnitude of the electro-osmotic effect and the hydrostatic flow in the paper. Unless all the variation factors are rigidly controlled, it is not possible to obtain reproducible results.

Second part of the paper deals with the quantitative estimation of nickel after electro migration in 0.5 molar tartaric acid medium.

It has been found that by judicious selection of carrier electrolytes, it is possible to separate many closely related inorganic ions into zones several mm apart on filter paperstrip, giving thereby a scope for the location, identification, and the quantitative analysis of the ions separated. For successful quantitative estimation of the ion there must be no trailing of the migrated spot which should be as concentrated as possible.

Anderson and Lederer[1] estimated quantitatively copper by electro deposition of the migrated ion.

Maki[3]* quantitatively analysed small amount of barium and aluminium after electrophoretic movement from the band length on the filter paper. The band length of the spot was found to be proportional to the sample concentration when the ion was subjected to electrophoresis.

Experimental Procedure

One drop of the nickel solution containing 0.08 mg of nickel was subjected to electrophoresis in 0.5 molar tartaric acid medium for 5 hours under the potential gradient of 120 volts. The paper was dried, developed with rubeanic acid followed by ammonia. The band was then cut out, ignited, dissolved in aqua regia, evaporated to dryness with concentrated hydrochloric acid till free from nitric acid, extracted with water slightly acidified with dilute hydrochloric acid, neutralised with ammonia, it is then diluted with water so that the Ni solution obeys Beer's law, 1 ml of ammonia (1 : 1) and 1 ml of dimethylglyoxime (1% solution) was then added, thoroughly mixed and the solution was colorimetrically analysed with the help of Hilger's Spekker photo-electric absorptiometer using green filter.

* Cavallaro et al.[2] separated and estimated colorimetrically the ion pairs: Ni-Cu in 0.1 N lactic acid and Ni-CrO_4^{2-} in 1 M AcOH after 36 hours' electro-chromatographic run.

Another drop of the same nickel solution of the same concentration (0.08 mg of Ni) was taken on a filter paper, moistened with tartaric acid solution and under identical condition it was treated (except electrophoretic treatment) and colorimetrically examined. The optical density (in 2 cm cell) was found to be 0.456 before electrophoresis and 0.452 after electrophoresis.

From these data it appears that the migration of nickel ion is quantitative in tartaric acid medium and by colorimetric method nickel ion can be estimated.

Summary

Migration rate of ions increases with voltage. Nickel ion migrates in 0.5 Molar tartaric acid medium in a small well compact zone leaving no trailing and can be easily quantitatively estimated colorimetrically.

Acknowledgment. The author is indebted to Dr. H. J. Taylor, Ph. D., Principal; Prof. R. N. Das, Head of the Department of Chemistry, Scottish Church College, Calcutta; Sri. N. N. Ghosh, Lecturer in Inorganic Chemistry, University College of Science & Technology, Calcutta and Dr. S. K. Mukerjee, D. Sc., UNESCO's Consultant in Indonesia, for giving laboratory facilities and valuable advice during the progress of the work.

References

[1] Anderson, J. R. A., and M. Lederer: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **6**, 472 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **138**, 387 (1953). — [2] Cavallaro, L., C. Bighi and G. Trabanelli.: Ann Chimica **47**, 189 (1857); cf. Z. analyt. Chem. **162**, 49 (1958). — [3] Maki, M.: Jap. Analyst **4**, 413 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **151**, 364 (1956). — [4] Mukerjee, H. G.: Z. analyt. Chem. **163**, 408 (1958).

Prof. H. G. Mukerjee, 3 Lake Place, Calcutta-29 (India)

Chemical Laboratories, Balwant Rajput College, Agra University (India)

Studies in Bivalent Chromium Salts

Part VIII*

Estimation of Nitro, Nitroso, and Azo Compounds, Quinones and Carbohydrates with Chromous Sulphate

By

J. P. Tandon

(Eingegangen am 29. Dezember 1958)

Chromous sulphate has been employed for the reduction of compounds containing nitro, nitroso, quinoid and azo groups and for the determination of carbohydrates. For the estimation of the first three groups of compounds, direct as well as indirect methods were followed. Neutral red, phenosafranine and p-ethoxychrysoidine serve satisfactorily as the internal indicators, whereas for indirect titrations chromous sulphate was

* Part VII: See. Z. analyt. Chem. **164**, 314 (1958).

added in excess, and the excess ascertained by ferric solution, using ammonium thiocyanate as indicator. For the reduction of azocompounds, the azodyes were titrated directly with chromous sulphate, and comparatively the reduction studied with titanous chloride. In the case of carbohydrates, the usual method of reduction of Fehling's solution was first employed and then the unused copper sulphate determined by direct-titration with chromous sulphate, as described in the earlier communication[24].

Chromous sulphate has not yet been used to the extent as titanous chloride for the volumetric estimation of functional groups of organic compounds. KNECHT[14] used titanous chloride for the estimation of nitro-compounds, whereas SINNATT[21] studied the estimation of picric acid additive compounds. The reduction of nitro compounds was also studied by VAN DUIN[5]. KNECHT and HIBBERT used titanous chloride for the reduction of quinones[15a] and nitro[15b] compounds. RATHSBURG[19] showed that the reduction with titanous salts can be used with advantage for the determination of nitro group compounds containing diazo and azide groups. SALVATERRA[20] used titanous chloride for the determination of nitroso compounds. CONANT, KHAN, FIESHER and KURTZ[4] studied the reversible reduction of the salts of alpha and beta, mono and 1:5-1:8-2:6-2:7-disulphonic acid derivatives of anthraquinone electrochemically. HENDERSON and MACBETH[10] studied the reduction of substituted nitroparaffins, whereas CALLAN and HENDERSON[3] carried out the estimation of the nitro group in aromatic organic compounds. The reduction of nitro compounds such as 2 nitro-m-xylene[17] and nitroguanidine[27] reducible with difficulty was also studied with titanous chloride. STERNGLANZ and collaborators[23] determined nitroguanidine in a citrate buffer solution and NEWTON and coworkers[17] studied the kinetics of the reduction of nitrobenzene and its substitution products.

Hypovanadous salts, whose oxidation potential at 25° C ($E°\ V^{III}/V^{II}$ = −0.255 volt) lies between those of titanous ($E°\ Ti^{IV}/Ti^{III}$ = 0.10 volt) and chromous salts ($E°\ Cr^{III}/Cr^{II}$ = −0.40 volt), have also been used to some extent. GAPČENKO and ŠEINCIS[9] determined nitro compounds by adding an excess of the reagent to a solution of the nitro compound, and titrating the excess of vanadium(II) solution with ferric solution using phenosafranine as indicator. ELLIS and VOGEL[6] also used the same reducing agent for the reduction of nitro compounds, which are reduced easily as well as with difficulty. The reductimetric determination of anthraquinone was carried out by MATRKA and SÁGNER[16].

Chromous chloride solution was used by TERENT'EV and GORJAČEVA[25] in the determination of quinone, azobenzene and m-and p-nitroaniline with neutral red as indicator. The chromous solution has been standardised against ferric ammonium sulphate in the presence of potassium

sulphocyanide, otherwise, the chromous solution has been used for the potentiometric estimations. Jucker[12] titrated a number of organic compounds, containing azo, nitro, nitroso, and quinoid groups and detected the endpoints potentiometrically with a smooth Pt-calomel electrode system. Bottei and Furman[2] also studied potentiometrically the quantitative reduction of some diazonium compounds to the corresponding hydrazine derivatives by treatment in neutral or 0.05 N hydrochloric acid medium with an excess of chromous chloride, the excess of the chromous solution being determined by potentiometric titration with ferric solution.

It is thus evident that chromous solution has been used to a very little extent for the direct titration of organic compounds, employing visual indicators. Such titrations have been carried out in the present series of investigations.

Experimental

Materials

Ferrous ammonium sulphate, copper sulphate, sucrose and glucose (B.D.H., A.R.), chrome alum (violet), sodium hydroxide, sodium tartrate, sodium potassium tartrate, azo dyes of C.P. quality, and titanous chloride (15% B.D.H., technical) were used. Organic compounds used for estimation were of C.P. or B.D.H., L.R., quality and were recrystallised before use.

Reagents

Chromous Solution. About 25—45 g of chrome alum (violet) were dissolved in a litre of water containing 8—15 ml of concentrated sulphuric acid. The solution was reduced and standardised in the manner as described in the earlier communication[24].

Ferric Solution. It was prepared by dissolving about 10—20 g of ferrous ammonium sulphate in 62—125 ml of 12 N sulphuric acid and oxidising with 0,03 N potassium permanganate solution until a faint-pink colouration was obtained. This was made up to 500 ml.

Solutions of Nitro, Nitroso, and Quinoid Group Compounds. About 0.2 g of the compound was dissolved in 50—70 ml of alcohol and made up to 100 ml. In the case of picric acid about 0.1% aqueous solution was used.

Azo Dyes Solutions. Alcoholic solution of methyl red and methyl orange and aqueous solutions of congo red, bismarck brown and tartrazine of suitable strength were prepared.

Titanous Chloride. 40 ml of titanous chloride was boiled for about a minute with 60 ml of concentrated hydrochloric acid, cooled, made up to a litre and stored under hydrogen.

Sodium Tartrate and Sodium Potassium Tartrate Solutions. About 20% aqueous solutions were used.

Fehling's Solution.

(I) 34.64 g of copper sulphate dissolved in water and made up to 500 ml.

(II) 51.6 g of sodium hydroxide and 173 g of Rochelle salt dissolved, mixed and made up to 500 ml.

Glucose and Sucrose Solutions. 0.5—1.0% solutions of glucose and inverted sugar were prepared.

Estimation of Nitro Compounds (o-Nitroaniline, o-Nitrophenol, p-Nitrophenol, 2,4-Dinitrophenol, p-Nitrotoluene, m-Nitrobenzaldehyde, p-Nitrobenzaldehyde and Picric acid).

The following two methods were used:

Method A. 10 ml of the solution of the nitro compound were taken in a conical flask, a few drops of the indicator (neutral red, phenosafranine or p-ethoxychrysoidine) added, and carbon dioxide bubbled for about five minutes. The solution was then slowly titrated with chromous sulphate solution. The reddish, pinkish-violet, or violet colour generally changes to brownish and finally to green at the endpoint.

In the case of p-nitrobenzaldehyde and picric acid, 5 ml of concentrated hydrochloric acid were also added before titration, whereas in the case of others, addition of hydrochloric acid results in the lowering of the endpoints. While titrating o-nitroaniline, o-nitrophenol, 2.4-dinitrophenol, and picric acid, if no indicator is used in the beginning, a dark brownish colour develops by itself, on addition of chromous sulphate, which changes to green at the endpoint, and sometimes coincides exactly with the endpoint, found with the help of indicators.

Method B. 10 ml of the solution of the nitrocompound were taken in a conical flask and after adding 5 ml of concentrated hydrochloric acid in the case of p-nitrobenzaldehyde and picric acid, excess of chromous sulphate was added, and the excess determined by titrating against ferric solution, using ammonium thiocyanate as indicator. In the Table 1 (p. 188) are given the results obtained with the nitrocompounds.

The following quantitative reactions occur with the above organic compounds:

$$NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot NO_2 + 6H = NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2 + 2H_2O$$
$$NO_2 \cdot C_6H_4OH + 6H = NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot OH + 2H_2O$$
$$(NO_2)_2 \cdot C_6H_3OH + 12H = (NH_2)_2 \cdot C_6H_3OH + 4H_2O$$
$$CH_3 \cdot C_6H_4 \cdot NO_2 + 6H = CH_3 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2 + 2H_2O$$
$$NO_2 \cdot C_6H_4 \cdot CHO + 6H = NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot CHO + 2H_2O$$
$$(NO_2)_3 \cdot C_6H_2 \cdot OH + 18H = (NH_2)_3 \cdot C_6H_2OH + 6H_2O$$

Estimation of Nitroso-Compound and of Quinones (α-Nitroso-β-napthol, Benzil and Quinhydrone)

Method: 20 ml of the solution were taken and again the same two alternative methods were followed in each case. The results are shown in Table 2 (p. 189).

The following quantitative reactions occur with the above organic compounds:

$$NO \cdot C_{10}H_6 \cdot OH + 4H = NH_2 \cdot C_{10}H_6 \cdot OH + H_2O$$
$$C_6H_5 \cdot CO \cdot CO \cdot C_6H_5 + 2H = C_6H_5 \cdot CO \cdot CH(OH) \cdot C_6H_5$$
$$C_6H_4O_2 \cdot C_6H_4(OH)_2 + 2H = 2C_6H_4(OH)_2$$

Estimation of Azodyes (Methyl Red, Methyl Orange, Congo Red, Bismarck Brown and Tartrazine)

Knecht[14] reduced the azodyes with titanous chloride. Fischer, Fritzen and Eilles[8] used hyposulphite for the reduction of triphenylmethane dyes and of azocompounds. The reduction of azodyes by silver in sodium sulphide solution was studied by Arbuzov and Gilman[1].

Table 1

1	2 Iron equ. of 1 ml of $CrSO_4$ soln. g	3 Vol. of Cr SO_4 soln. regd. for reduction of 10 ml solution ml	4 Iron equ. corresponding to (3) g	5 Wt. of the nitrocompound found g	6 Wt. of the nitrocompound actually present g
			o-Nitroaniline		
I. (A)	0.006225	7.65	0.04762	0.01956	0.01964
(B)	0.006225	7.63	0.04750	0.01951	0.01964
II. (A)	0.005964	8.00	0.04771	0.01959	0.01964
(B)	0.005964	8.00	0.04771	0.01959	0.01964
			o-Nitrophenol		
I. (A)	0.006816	7.30	0.04976	0.02059	0.02068
(B)	0.006816	7.28	0.04962	0.02053	0.02068
II. (A)	0.005301	8.80	0.04665	0.01930	0.01924
(B)	0.005301	8.81	0.04670	0.01932	0.01924
			p-Nitrophenol		
I. (A)	0.005301	9.20	0.04877	0.02018	0.02024
(B)	0.005301	9.22	0.04888	0.02022	0.02024
II. (A)	0.007068	6.90	0.04877	0.02018	0.02024
(B)	0.007068	6.93	0.04898	0.02026	0.02024
			2,4-Dinitrophenol		
I. (A)	0.006816	10.50	0.07157	0.01960	0.01972
(B)	0.006816	10.50	0.07157	0.01960	0.01972
II. (A)	0.006361	11.25	0.07156	0.01959	0.01972
(B)	0.006361	11.28	0.07175	0.01965	0.01972
			p-Nitrotoluene		
I. (A)	0.005301	9.20	0.04877	0.01989	0.02002
(B)	0.005301	9.24	0.04898	0.01997	0.02002
II. (A)	0.006816	6.90	0.04703	0.01918	0.01922
(B)	0.006816	6.92	0.04717	0.01923	0.01922
			m-Nitrobenzaldehyde		
I. (A)	0.006816	6.65	0.04533	0.02037	0.02044
(B)	0.006816	6.66	0.04539	0.02040	0.02044
II. (A)	0.005301	8.50	0.04506	0.02025	0.02012
(B)	0.005301	8.46	0.04485	0.02016	0.02012
			p-Nitrobenzaldehyde		
I. (A)	0.006736	6.30	0.04244	0.01907	0.01900
(B)	0.006736	6.32	0.04257	0.01913	0.01900
II. (A)	0.006898	6.30	0.04346	0.01953	0.01944
(B)	0.006898	6.29	0.04339	0.01950	0.01944
			Picric Acid		
I. (A)	0.005301	7.40	0.03923	0.008912	0.008948
(B)	0.005301	7.46	0.03955	0.008985	0.008948
II. (A)	0.005963	6.60	0.03936	0.008941	0.008948
(B)	0.005963	6.56	0.03912	0.008890	0.008948

Table 2

1	2 Iron equ. of 1 ml of $CrSO_4$ soln. g	3 Vol. of Cr SO_4 soln. regd. for reduction of 20 ml solution ml	4 Iron equ. corresponding to (3) g	5 Wt. of the compound found g	6 Wt. of the compound actually present g
			α-Nitroso β-Naphthol		
I. (A)	0.006361	7.50	0.04771	0.03685	0.03712
(B)	0.006361	7.50	0.04771	0.03685	0.03712
II. (A)	0.007068	6.20	0.04382	0.03383	0.03364
(B)	0.007068	6.19	0.04375	0.03379	0.03364
			Benzil		
I. (A)	0.006736	3.20	0.02156	0.04043	0.04068
(B)	0.006736	3.23	0.02176	0.04080	0.04068
II. (A)	0.007068	3.05	0.02156	0.04043	0.04068
(B)	0.007068	3.07	0.02170	0.04069	0.04068
			Quinhydrone		
I. (A)	0.006816	3.40	0.02317	0.04509	0.04488
(B)	0.006816	3.37	0.02297	0.04471	0.04488
II. (A)	0.006816	3.00	0.02045	0.03980	0.03980
(B)	0.006816	2.99	0.02038	0.03967	0.03980

Method. 25 ml of the dye solution was taken in a conical flask and carbon dioxide bubbled for about five minutes. It was then successively titrated with chromous sulphate and titanous chloride solutions, and the endpoints were marked by the green colour in the first and complete decolourisation in the second case.

Addition of no other substance was found necessary while titrating methyl red, methyl orange and bismarck brown against chromous sulphate, whereas 25 ml of sodium tartrate and sodium potassium tartrate were added for titrating methyl orange and bismarck brown repectively with titanous chloride. In the reduction of congo red, presence of sodium tartrate was found to be necessary in both the cases, and for titanous chloride the solution was boiled in a current of carbon dioxide. For reducing tartrazine, 20 ml of 6 N hydrochloric acid was added and the titration carried out after heating the solution. It was also necessary to add sodium tartrate solution for reduction with titanous chloride. The results of the estimations are shown in Table 3 (p. 190).

Estimation of Carbohydrates (Glucose and Sucrose)

The usual method of estimating carbohydrates (glucose and sucrose) is with the help of Fehling's solution, but some difficulty is often experienced in noting the endpoint, since it is not so convenient to note the disappearance of blue colour. Radlberger and Siegmund[18] used titanous chloride for the estimation of invert sugar and estimated the residual copper in the filtrate. But no suitable indicator is described and

Table 3

1 Reducing agent	2 Amount of iron in 10 ml of ferric solution g	3 Volume of reducing agent regd. by 10 ml of iron solution ml	4 Iron equ. of 1 ml of reducing agent g	5 Volume of reducing agent regd. by 25 ml of dye solution ml	6 Iron equ. corresponding to (5) g
			Methyl Red		
$CrSO_4$	0.03034	12.60	0.002408	4.00	0.009632
$TiCl_3$	0.03034	20.20	0.001501	6.40	0.009606
$CrSO_4$	0.03034	12.80	0.002370	4.05	0.009600
$TiCl_3$	0.03034	20.30	0.001489	6.50	0.009678
			Methyl Orange		
$CrSO_4$	0.03034	12.20	0.002408	3.80	0.009150
$TiCl_3$	0.03034	20.50	0.001480	6.20	0.009176
$CrSO_4$	0.03034	12.90	0.002351	3.90	0.009169
$TiCl_3$	0.03034	20.90	0.001450	6.30	0.009135
			Congo Red		
$CrSO_4$	0.03034	14.30	0.002121	5.70	0.01209
$TiCl_3$	0.03034	20.70	0.001465	8.20	0.01201
$CrSO_4$	0.03034	14.00	0.002167	5.55	0.01203
$TiCl_3$	0.03034	20.20	0.001502	8.00	0.01202
			Bismarck Brown		
$CrSO_4$	0.03034	12.10	0.002507	5.10	0.01279
$TiCl_3$	0.03034	20.50	0.001480	8.70	0.01288
$CrSO_4$	0.03034	12.40	0.002446	5.20	0.01272
$TiCl_3$	0.03034	20.80	0.001458	8.70	0.01268
			Tartrazine		
$CrSO_4$	0.03034	12.60	0.002408	11.25	0.02709
$TiCl_3$	0.03034	20.30	0.001494	18.10	0.02704
$CrSO_4$	0.03034	12.50	0.002427	11.10	0.02694
$TiCl_3$	0.03034	20.30	0.001494	18.10	0.02704

a definite small amount of a ferric salt with potassium sulphocyanide was employed to mark the endpoint. WILLSTÄTTER and SCHUDEL[26] made use of hypoiodite for the determination of dextrose. FISCHER[7] and KNECHT and HIBBERT[15c] however, converted glucose into glucosazone, reduced it with excess of titanous chloride and determined the excess with crystal scarlet. IONESCU and VARGOLICI[11] used alkaline ferricyanide for the direct titration of reducing sugars. STEGEMAN and ENGLIS[22] dissolved cuprous oxide in a measured excess of standard ceric solution, and the excess ascertained with ferrous sulphate solution, o-phenanthroline serving as the indicator. Recently KLANTSCHNIGG[13] carried out the electrolytic estimation of copper separated as cuprous oxide from Fehling's solution.

In the present series of investigations the residual copper sulphate was determined by direct titration with chromous sulphate using neutral red or phenosafranine as the internal indicator, as described in the earlier communication[24].

Table 4

1	2 Iron equ. of 1 ml of $CrSO_4$ soln. g	3 Vol. of $CrSO_4$ soln. regd. for 500 ml of the filtrate ml	4 Iron equ. corresponding to (3) g	5 Iron equ. of the original Fehling's solution g	6 Iron equ. used for reduction g	7 Wt. of carbohydrate found g	8 Wt. of carbohydrate actually present g
			Glucose				
1.	0.008524	90.00	0.7672	1.5574	0.7902	0.5070	0.5035
2.	0.007286	52.00	0.3789	1.1660	0.7871	0.5050	0.5006
3.	0.007286	52.50	0.3825	1.1660	0.7835	0.5027	0.5006
4.	0.006132	128.00	0.7848	1.1772	0.3924	0.2518	0.2508
			Inverted Sugar				
1.	0.008524	86.00	0.7331	1.5574	0.8243	0.5026	0.5042
2.	0.007286	47.50	0.3461	1.1660	0.8199	0.4999	0.5014
3.	0.007286	47.00	0.3425	1.1660	0.8235	0.5021	0.5014
4.	0.006132	125.00	0.7665	1.1772	0.4107	0.2504	0.2503

Method. 75—100 ml of Fehling's solution I and 75—100 ml of Fehling's solution II were mixed together and boiled. Now to the boiling solution 50 ml of the carbohydrate solution (0.5—1%) was added slowly, with constant stirring. About 100 ml of cold water were then added, and the cuprous oxide was filtered off. The filtrate was just acidified with hydrochloric acid and made up to 500 ml. 50 ml of this solution were now taken into a conical flask, 20—25 ml of concentrated hydrochloric acid and a few drops of the indicator (neutral red or phenosafranine) added. After bubbling carbondioxide for about five minutes, the solution was then titrated slowly with chromous sulphate solution Table 4 is showing the results of the estimations.

Summary

As shown in the above investigations, chromous sulphate can be used for the quantitative reduction of compounds containing nitro, nitroso, quinoid, and azo groups. In the case of the first three, the estimations can be carried out by either of the two methods, direct titration by using neutral red, phenosafranine or p-ethoxychrysoidine as internal indicators, or by adding excess of chromous sulphate and titrating the excess with ferric solution, using thiocyanate as indicator. The comparative study of reduction of azodyes shows that the dyes can be estimated quantitatively with chromous sulphate as well. It is also possible to estimate the carbohydrates, since the unused copper sulphate can be directly titrated against chromous sulphate in presence of neutral red or phenosafranine as indicator. The results are fairly satisfactory and within experimental error ($\pm$ 0.9%).

The author is highly indebted to Dr. R. C. Mehrotra, Professor of Chemistry, Gorakhpur University, for his helpful suggestions and keen interest in the work.

References

[1] Arbuzov, G. I., and L. I. Gilman: Ž. obšč. Chim. **20**, 1847 (1950). — [2] Bottei, R. S., and N. H. Furman: Analyt. Chemistry **29**, 119 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **158**, 443 (1957). — [3] Callan, T., and J. A. R. Henderson: J. Soc. chem. Ind. **41**, 157 T (1922); cf. Z. analyt. Chem. **81**, 327 (1930). — [4] Conant, J. B., H. M. Khan, L. F. Fiesher and S. S. Kurtz: J. Amer. chem. Soc. **44**, 1382 (1922). — [5] van Duin, C. F.: Chem. Weekbl. **16**, 1111 (1919); cf. Z. analyt. Chem. **61**, 82 (1922). — [6] Ellis, C. M., and A. I. Vogel: Analyst **81**, 693 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **159**, 133 (1957/58). — [7] Fischer, E.: Ber. dtsch. chem. Ges. **19**, 1886 (1920). — [8] Fischer, O., A. Fritzen, and S. Eilles: J. prakt. Chem. **79**, 562, 569 (1910). — [9] Gapčenko, M. V., and O. G. Šeincis: Zavodskaja Laborat. **9**, 562 (1940). — [10] Henderson, T., and A. K. Macbeth: J. chem. Soc. (London) **121**, 892 (1922). — [11] Ionescu, A., and V. Vargolici: Bull. Soc. chim. Romania **2**, 38 (1920). — [12] Jucker, H.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 210 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **160**, 305 (1958). — [13] Klantschnigg, P.: Ann. Sperimentaz. agrar. **10**, 1405 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **155**, 385 (1957). — [14] Knecht, E.: J. Soc. Dyers Colourists **19**, 169 (1903); cf. Z. analyt. Chem. **44**, 569 (1905). — [15] Knecht, E., and E. Hibbert: a) Ber. dtsch. chem. Ges. **43**, 3455 (1910); cf. Z. analyt. Chem. **51**, 510 (1912). — b) J. chem. Soc. (London) **125**, 1537 (1924). — c) J. chem. Soc. (London) **125**, 2009 (1924); cf. Z. analyt. Chem. **75**, 312 (1928). — [16] Matrka, M., and Z. Ságner: Chem. Listy **51**, 68 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **161**, 52 (1958). — [17] Newton, S. A., F. J. Strubbs and C. H. Wood: J. chem. Soc. (London) **1953**, 3384. — [18] Radlberger, L., and W. Siegmund: Österr.-Ungar. Z. Zuckerind. **42**, 34 (1913). — [19] Rathsburg, H.: Ber. dtsch. chem. Ges. **54** B, 3183 (1921). — [20] Salvaterra, H.: Chemiker-Ztg. **38**, 90 (1914); cf. Z. analyt. Chem. **53**, 638 (1914). — [21] Sinnatt, F. S.: J. chem. Soc. (London), Proc. chem. Soc. **1905**, 29. — [22] Stegeman, R. A., and D. T. Englis: Trans. Illinois State Acad. Sci. **27**, 75 (1934). — [23] Sternglanz, P. D., R. C. Thompson and W. L. Savell: Analyt. Chemistry **25**, 1111 (1953); cf. Z. analyt. Chem. **146**, 42 (1955) — [24] Tandon, J. P., and R. C. Mehrotra: Z. analyt. Chem. **158**, 20 (1957). — [25] Terent'ev, A. P., and G. S. Gorjačeva: Utschenye Sapisski **3**, 277 (1934); cf. Chem. Zbl. **1935**, II, 3954. — [26] Willstätter, R., and G. Schudel: Ber. dtsch. chem. Ges. **51**, 780 (1918); cf. Z. analyt. Chem. **60**, 53 (1921). — [27] Zimmermann, R. P., and E. Lieber: Analyt. Chemistry **22**, 1151 (1950); cf. Z. analyt. Chem. **135**, 226 (1952).

J. P. Tandon, Department of Chemistry, University of Gorakhpur, Gorakhpur (India)

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der ferro-magnetischen Beimengungen im austenitischen Stahl mit Hilfe der Elektronenbeugung

Von

SH. YAMAGUCHI und T. HORI

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. Dezember 1958)

Die Laufbahn eines Elektronenstrahles läßt sich im Magnetfeld ablenken. Dieses Phänomen, d. h. der Lorentz-Effekt erscheint auch bei einem Elektronenbeugungsbild, das man an einem Ferromagneticum aufnimmt[3]. Wir suchten diesen Effekt zu verwenden, um die im nicht ferromagnetischen Sonderstahl (z. B. 18-8-Cr-Ni-Stahl) eingeschlossenen, ferromagnetischen Beimengungen quantitativ zu erfassen.

Vorversuche

Um die besten Bedingungen für das vorliegende Verfahren zu ermitteln, wurden einige Versuche ausgeführt. Als Versuchsobjekt diente ein Stückchen eines harten Stahles, nämlich einer gewöhnlichen Rasierklinge (10×10 mm), deren remanenter Magnetismus 10000 Gauß betrug. Die scharfe Kante der Klinge (die minimale Dicke des keilförmigen Stückes betrug etwa 1000 Å) wurde mit einem Elektronenstrahl durchstrahlt (siehe Abb. 1), um das Interferenzdiagramm zu beobachten[1].

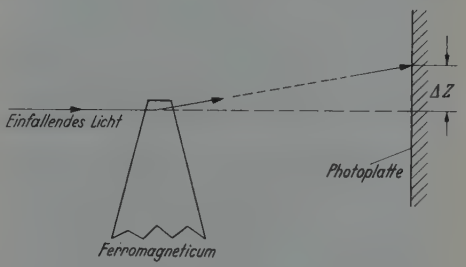


Abb. 1. Anordnung der Elektronenbeugung für das Ferromagneticum

Zur Messung der durch das Ferromagneticum bewirkten Ablenkung des Einfallichtes wurde ein Doppelbelichtungsverfahren mit einer nicht ferromagnetischen Substanz benutzt[2]. Das erhaltene Doppelbild, das die Beugungsringe des harten Stahles und die des Goldes enthält, ist in Abb. 2 wiedergegeben. Die Beugungsringe aus den beiden Substanzen erscheinen infolge des Lorentz-Effektes exzentrisch. Die Ablenkung ΔZ des Einfallichtes in Abb. 2 wird nach dem schon beschriebenen Verfahren gemessen.

In unserer Anordnung besteht folgende Beziehung zwischen ΔZ und der Magnetisierung B der Probe.

$$\Delta Z = \frac{e\lambda L}{h} \int_0^l B\, dl. \qquad (1)$$

Wegen der Bedeutung der in dieser Gleichung verwendeten Buchstaben sei auf die frühere Mitteilung verwiesen[2]. In Abb. 2 (benutzte Wellenlänge $\lambda = 0{,}0292$ Å) ergibt die Messung $\Delta Z = 0{,}20$ cm. Nimmt man an, daß B homogen ist, so erhält man nach Gl. (1) als mittleren Wert von l den Wert

$$\bar{l} = 5{,}7 \times 10^4 \text{ Å}.$$

Abb. 2. Die Beugungsbilder des harten Stahles und des Goldes sind überlagert. Infolge des Lorentz-Effektes treten die Ringe exzentrisch auf. Wellenlänge: 0,0292 Å. Kameralänge: 495 mm. Positiv in 2,3facher Vergrößerung

Dieser $\bar{l}$-Wert ist für die folgenden Berechnungen anzuwenden.

Ein Nickelblech wurde auf dieselbe Weise wie der harte Stahl untersucht. Die Form dieses Versuchsstückes war ganz ähnlich der der Rasierklinge. Das aufgenommene Doppelbild mit Gold ist schon in der früheren Mitteilung abgebildet[2]. Für das Nickelblech erhält man nach Gl. (1) mit dem $\bar{l}$-Wert in[1] $B = 3300$ Gauß. Dieser Wert der Magnetisierung stimmt mit der bekannten Remanenz des Nickels überein. Dies deutet darauf hin, daß unser Verfahren zur magnetischen Analyse geeignet ist.

Ferromagnetische Beimengungen im austenitischen Sonderstahl

Der austenitische Cr-Ni-Stahl (18-8) mit einem kubisch-flächenzentrierten Gitter ist nicht ferromagnetisch. Poliert man aber mechanisch die Oberfläche dieses Werkstoffes, so erleidet sie eine Spannungsumwandlung vom Austenit zum ferromagnetischen Martensit bzw. Ferrit mit einem körperzentrierten Gitter. Diese Umwandlungsschicht kann durch unser Verfahren untersucht werden.

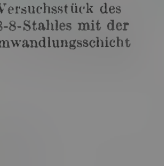


Abb. 3. Ein keilförmiges Versuchsstück des 18-8-Stahles mit der Umwandlungsschicht

Die Kante eines Stückes des gewöhnlichen 18-8-Stahles ($10 \times 10 \times 0{,}5$ mm) wurde durch mechanisches Polieren zugespitzt, wie in Abb. 3 gezeigt. An der Spitze bildete sich infolge der in Frage kommenden

Umwandlung die martensitische Schicht. Die minimale Dicke des keilförmigen Stückes betrug 2000 bzw. 3000 Å. Die Elektronen durchstrahlten diese dünne Spitze der Probe, um das Beugungsbild zu ergeben. Abb. 4 ist ein Doppelbild, das die Beugungsringe der Probe und die des Goldes enthält. Dieses Bild wurde auf dieselbe Weise wie bei Abb. 2 hergestellt. Man erkennt in Abb. 4 wieder, daß die Ringe der Probe und die des Goldes infolge des Lorentz-Effektes exzentrisch auftreten. Eine Reihe der Ringe aus der Probe in Abb. 4 ist charakteristisch für das martensitisch körperzentrierte Gitter (Gitterkonstante: 2,86 Å).

Ein 18-8-Stahl, der Molybdän (2–3 Gew.-%) als Hemmungsmittel zur Umwandlung enthielt, ist in Abb. 5 in derselben Art wie bei Abb. 4 beobachtet worden. Es handelte sich darum,

Abb. 4

Abb. 5

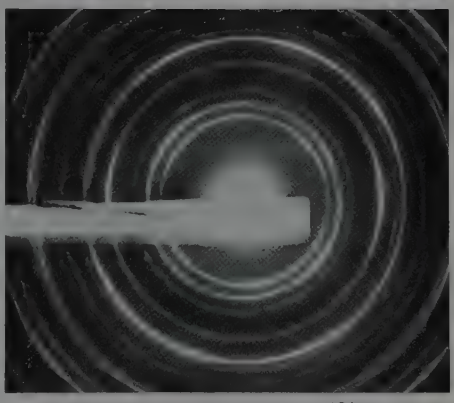


Abb. 6

Abb. 4. Der mechanisch polierte 18-8-Stahl und Gold. Wellenlänge: 0,0294 Å

Abb. 5. Der mechanisch polierte 18-8-Stahl und Gold. Wellenlänge: 0,0288 Å

Abb. 6. Der elektrolytisch polierte 18-8-Stahl und Gold. Wellenlänge: 0,0301 Å

nachzuweisen, daß die betreffende Ringexzentrizität bei Abb. 5 kleiner als bei Abb. 4 ist. Eine Reihe der Ringe der Probe in Abb. 5 ist charakteristisch für das martensitisch körperzentrierte Gitter.

Die Kante des keilförmigen Versuchsstückes wurde elektrolytisch poliert, um die Umwandlungsschicht zu beseitigen. Aus der mit dieser Probe erhaltenen Abb. 6 ist zu erkennen, daß die Ringexzentrizität sehr gering ist. Die Reihe der Ringe aus der Probe ist für das austenitische, kubisch-flächenzentrierte Gitter des Substrates (Gitterkonstante: 3,52 Å) charakteristisch. Der in Abb. 6 entstandene Lorentz-Effekt beruht auf den ferromagnetischen, im Substrat befindlichen Beimengungen, und zwar Eisenoxyd, -carbid, -sulfid usw.

An Abb. 4, 5 u. 6 kann man nach Gl. (1) und mit dem l-Wert in[1] die verschiedenen Magnetisierungen (B) der Proben abschätzen. Für Abb. 4 gilt $\lambda = 0{,}0294$ Å und $\Delta Z = 0{,}043$ cm, für Abb. 5 $\lambda = 0{,}0288$ Å und $\Delta Z = 0{,}033$ cm, und für Abb. 6 $\lambda = 0{,}0301$ Å und $\Delta Z = 0{,}017$ cm. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt.

Tabelle

Werkstoffe	Polieren	Gitterstruktur	B(Gauß)
Harter Stahl		k. k-z	10000
Gewalztes Nickelblech		k. f-z	3300
18-8-Stahl	mechanisch	k-z	2100
18-8-Mo-Stahl	mechanisch	k-z	1700
18-8-Stahl	elektrolytisch	k. f-z	800

k. k-z: kubisch-körperzentriert; k. f-z: kubisch-flächenzentriert; k-z: körperzentriert.

Die B-Werte in der Tabelle hängen von der Dicke der Umwandlungsschicht, der Orientierung des Weißbezirkes und der Natur des Ferromagneticums ab. Unser vorliegendes Verfahren mit der Elektronenbeugung gestattet eine kristallographische und magnetische Analyse des Sonderstahles. Die Möglichkeit der Untersuchung des Umwandlungs- und Verunreinigungsbetrages des 18-8-Stahles hat für die Industrie Bedeutung.

Zusammenfassung

Der magnetische Lorentz-Effekt, der bei der Elektronenbeugung an einem Ferromagneticum erscheint, kann zur Analyse der ferromagnetischen Beimengungen im 18-8-Stahl dienen. Diese Beimengungen erfaßt man nach dem vorliegenden Verfahren sowohl magnetisch als auch kristallographisch.

Literatur

[1] Yamaguchi, Sh.: J. appl. Physics **25**, 811 (1954). — [2] Yamaguchi, Sh.: diese Z. **165**, 105 (1959). — [3] Yamaguchi, Sh., u. T. Hori: diese Z. **158**, 360 (1957).

Sh. Yamaguchi, The Institute of Physical and Chemical Research, 31 Kamifuji (Hongo) Tokyo (Japan)
T. Hori, Shimadzu Ltd. Kyoto (Japan)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Röntgenfluorescenzanalyse. R. L. Barinskij[1] beschreibt *die quantitative Bestimmung der Seltenen Erden in Mineralien und Konzentraten* mit Hilfe der *Röntgenfluorescenzanalyse*. Das Verfahren ist anwendbar auf alle Elemente der Gruppe in Konzentrationen von 0,1 100% (nach vorheriger Anreicherung von 0,001% an). Der Fehler beträgt 2—5% bei Gehalten über 3%.

Die Röntgenfluorescenzanalyse zur Bestimmung von Uran, Thorium, Blei, Tantal, Niob, Hafnium, Zirkonium, Yttrium und Strontium in Erzen und Mineralien behandeln K. I. Narbutt und I. D. Bespalova[2]. Die Nachweisgrenze für die einzelnen Elemente liegt je nach Art der Probe zwischen 0,05 und 0,3%. Der mittlere Fehler beträgt ± 10% bei einem Zeitbedarf von 1 Std.

N. F. Losev und A. N. Glotova[3] empfehlen die *röntgenfluorometrische Bestimmung von Zirkonium* in Erzen. Gehalte von 1 –65% lassen sich mit einem Fehler von 5—6% bestimmen. Alle Verfahren sind im Original genau beschrieben.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 613 -617 (1958) [Russisch]. — [2] Zavodskaja Laborat. **24**, 617 619 (1958) [Russisch]. - [3] Zavodskaja Laborat. **24**, 619—621 (1958) [Russisch]. Staatl. Inst. f. seltene Metalle, Irkutsk (UdSSR). H. Wunderlich

Zur Identifizierung von Natriumphosphaten mit einer fokussierenden Röntgenkamera geben D. E. C. Corbridge und F. R. Tromans[1] die *Netzebenenabstände von 60 verschiedenen kristallinen Natriumphosphaten* an, die sie aus Aufnahmen mit der Guinier-Kamera bestimmt haben. Das höhere Auflösungsvermögen dieser fokussierenden Kamera gestattet mehr Aussagen als sie durch Debye-Scherrer-Kameras (19 cm) ermöglicht werden. In der Arbeit ist die Herstellung der 60 Proben angegeben und neben der Tabelle sind die Beugungsaufnahmen aller Präparate abgebildet. Es wird darauf hingewiesen, daß die gefundenen Werte verschiedentlich von den auf den ASTM-Karten angegebenen differieren.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1101 –1110 (1958). Albright & Wilson (Mfg), Ltd. Oldbury, Birmingham (England). F. Rosendahl

Papierchromatographie. *Über die Möglichkeit der quantitativen Auswertung von Papierchromatogrammen aus Impedanzänderungen* berichten M. Hejtmánek und J. Hejtmánková[1]. Die Methode beruht auf folgendem Prinzip (vgl. auch die ähnlichen Verfahren von F. Oehme[2] und G. G. Blake[3]): Das Papierchromatogramm, welches den zu untersuchenden Stoff enthält, wird nach dem Trocknen an der Luft in Form eines Streifens zwischen zwei Elektroden durchgezogen, die in einen Hochfrequenzoscillatorkreis eingeschaltet sind. Das reine Papier hat eine andere Impedanz als das gleiche Papier, das auch nur eine Spur eines elektrisch leitenden Stoffes enthält. Die natürliche Feuchtigkeit des Papiers genügt vollkommen, damit die Impedanzänderung in Anwesenheit des leitenden Stoffes ein Anwachsen des Stromes verursacht. Dieses Anwachsen kann nach der Gleichrichtung mit einem empfindlichen Galvanometer registriert werden. Wenn man die Aufzeichnungen des Stromes längs des ganzen Chromatogramms laufend ausführt, dann ergibt sich eine Kurve der Abhängigkeit des Stromes von der Entfernung am Chromatogramm, die als Grundlage zur Auswertung dienen kann, wenn man dafür

sorgt, daß die Stromstärke eine eindeutige Funktion der Konzentration des leitfähigen Stoffes darstellt. Als störende Faktoren kommen die Eigenschaften des durchgemessenen Papiers (seine Breite, Dicke, Feuchtigkeit und Anwesenheit von Fremdstoffen) in Betracht und unter diesen ist die Feuchtigkeit des Papiers von größter Bedeutung (die aus diesem Grunde zwischen zwei Messungen verursachten Unterschiede können bis zu 55% betragen), so daß nur die unter ganz gleichen Bedingungen getrockneten Chromatogramme zur Messung genommen werden können. Die Abhängigkeit der Stromstärke von der Menge des chromatographierten Stoffes wurde durch Messung der Flecken von wäßrigen 0,5 m Lösungen von KJ, KCl, NaCl, $ZnSO_4$ und Glycin untersucht. Es ergeben sich Kurven der bei der Gaschromatographie üblichen Form. Die gesamte Stoffmenge kann durch Ausmessung der unter der Kurve befindlichen Fläche gefunden werden. Im Bereich der kleinen Konzentrationen, wie sie bei der Chromatographie vorkommen, ergeben sich bei allen untersuchten Elektrolyten in den Grenzen der Versuchsfehler lineare Eichkurven. — *Ausführung.* Die Apparatur, deren Blockschema im Original aufgeführt ist, gleicht im wesentlichen der Vorrichtung von Blake[3]. Die Elektroden sind Platinbleche von 0,1 mm Dicke, 3 mm Breite und 4 cm Länge; die gegenseitige Entfernung beider Elektroden beträgt 2 mm; sie ist so bemessen, daß der Streifen Whatmanpapier Nr. 1 reibungslos zwischen den Elektroden verschoben werden kann. Der Hochfrequenzoscillator ist vom Hartley-Child-Typ. Zur Gleichrichtung dient ein Duodioden-Detektor. Die gleichmäßige und synchronisierte Verschiebung des Streifens gleichzeitig mit dem Drehen der photographischen Kassette wird durch den Leitfaden erreicht, der an einem Ende mit einem Gewicht belastet ist und auf dem anderen Ende an die Achse der Kohlrausch-Trommel des Polarographen befestigt ist.

[1] Chem. Listy **52**, 444–449 (1958) [Tschechisch]. Chem.-technol. Hochschule Prag (ČSR). — [2] Diese Z. **150**, 93 (1956). — [3] Anal. chim. Acta **15**, 232, 342 (1956); vgl. diese Z. **156**, 34 (1957); **157**, 437 (1957). M. Hřivnáč

F. Korte und H. Weitkamp[1] beschreiben die *Aufnahme von Absorptions- und Fluorescenzspektren durch Messungen der Reflexion der auf Papierchromatogrammen verteilten Substanzflecken.* Nur 0,1–5 μg Substanz werden benötigt, die zeitraubende und schwierige Arbeit des Extrahierens von Papier entfällt. Bei *^{14}C-markierten Verbindungen* kann so gleich die spezifische Aktivität ermittelt werden. Zur Messung der Reflexionsspektren wird das Beckman-Spektralphotometer DK 2 herangezogen, das mit einer Ulbrichtschen Kugel ausgerüstet ist. Es kann dabei entweder monochromatisch beleuchtet oder beobachtet werden. Als Lichtquelle dient eine Deuteriumlampe bzw. eine Hg-Lampe, als Detektor ein Sekundärelektronenvervielfacher des Typs RCA 1 P 28. — *Absorptionsspektren* nicht fluorescierender Substanzen lassen sich gut in Reflexion messen. Die Spektren sind im allgemeinen gegenüber den in Durchsicht aufgenommenen um 5–8 mμ nach längeren Wellenlängen verschoben. Wenn die Ausdehnung des Fleckens nicht größer als die vom Monochromator abgebildete Fläche ist (0,9 × 0,9 cm), läßt sich mit Hilfe der Kubelka-Munkschen Gleichung die Substanzmenge quantitativ bestimmen. Als Beispiel sind unter anderem die Spektren von *2,3,6-Trimethoxyfluorenon(9), Orotsäure, Guanin, D,L-Tryptophan* und *Fluorescein* wiedergegeben. — Für die Messung der Absorptionsspektren fluorescierender Substanzen muß zur Absorption des Fluorescenzlichtes vor den Detektor ein geeignetes Filter geschaltet werden. — Für *Fluorescenzspektren* werden aus dem Licht der Hg-Hochdrucklampe (Osram HBO 200), das direkt in die Ulbrichtsche Kugel fällt, durch Vorschalten von Filtern entsprechende Spektralgebiete ausgesondert. Es wird dann das Energiespektrum des von der Probe ausgesandten Lichtes im Einzelstrahlverfahren

registriert. Als Beispiel sind die Fluorescenzspektren von *Berberin*, *Fluorescein*, *Xanthopterin* und *Thiochrom* abgebildet.

[1] Angew. Chem. **70**, 434—437 (1958). Univ. Bonn. D. Jentzsch

A. K. Majumdar und M. M. Chakrabartty[1] behandeln in Fortsetzung früherer Arbeiten[2] die *papierchromatographische Trennung der Edelmetallionen* Pd^{2+}, Pt^{4+}, Ir^{4+}, Rh^{3+}, Ru^{3+}, Os^{4+} *sowie* Au^{3+} und der zur Silber-, Kupfer- und Arsengruppe gehörenden Ionen Hg^{2+}, Ag^{+}, Pb^{2+}, Tl^{+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Bi^{3+}, As^{3+} *sowie* Sb^{3+}. Es wird aufsteigend in Anwesenheit von Maskierungsmitteln gearbeitet. Zur Entwicklung werden 18 Lösungsmittelgemische angegeben, die sich aus Aceton oder tert.-Butanol, Wasser und Salzsäure (D 1,19) oder Essigsäure (D 1,055) in verschiedenen Verhältnissen zusammensetzen. Einige Gemische enthalten ferner Ammoniumjodid, Thioharnstoff, Wismuthiol I und II oder 2-Mercaptobenzthiazol, um undissoziierte Komplexe zu bilden. Die mit den einzelnen Gemischen möglichen Trennungen sowie die R_L- und R_T-Werte der Ionen werden angegeben.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 129—131, 132—134 (1958). — [2] Majumdar, A. K., u. M. M. Chakrabartty: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 415 (1957); **18**, 193 (1958); vgl. diese Z. **163**, 123 (1958); **164**, 433 (1958). D. Jentzsch

Papierelektrophorese. J. Pieper[1] hat verschiedene *Auswertungsmethoden für Elektrophoresestreifen* mit automatischen Geräten, wie z. B. dem Elphor-Integraphen, dem Zeiss-Extinktionsschreiber und dem Spinco-Analytrol, verglichen und die Fehlerquellen untersucht. Festgestellt wird an 22 verschiedenen *Serumanalysen*, daß die *Albuminwerte* mit monochromatischem Licht besser erfaßt werden, daß die allein durch die Auswertemethode bedingte Fehlerstreuung in dem Maße wächst wie eine Beschleunigung der Auswertung erreicht wird, und daß zuverlässigere Ergebnisse erhalten werden, wenn eine flache, breite Verteilungskurve registriert wird. Aus Messungen mit drei Zeiss-Geräten geht auch eine unterschiedliche Empfindlichkeit gleicher Geräte hervor. Nachdrücklich wird auf das Planimeter als Fehlerquelle hingewiesen, vor allem auf seine technischen Mängel bei langjährigem Gebrauch, die bei Vergleichen mit neuen Planimetern erst offenbar werden. Auch auf Fehler infolge Schleppenbildung aus versuchstechnischen Gründen wird eingegangen.

[1] Klin. Wschr. **1958**, 605—609. Univ. Münster i. W. K. Cruse

Zur Trennung mehrerer Ionen mittels Verdrängung an Ionenaustauschern entwickeln C. Cornet, J. Coursier und J. Huré[1] Gleichungen zur Berechnung der Länge der Banden, die einzelne Ionen aus einem Gemisch in einer Austauschersäule durchlaufen müssen, damit eine Trennung eintritt. Die Verff. belegen ihre Berechnungen durch die experimentellen Ergebnisse bei der Verdrängung von *Lithium*, *Natrium*, *Ammonium* und *Kalium* durch Calciumacetatlösung.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 259—266 (1958). École Sup. Phys. Chim., Paris (Frankreich). Siehe auch Coursier, J., u. J. Huré: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 272 (1958); vgl. diese Z. **164**, 421 (1958); Jouy, A. D., u. J. Coursier: Bull. Soc. chim. France **1958**, 323; vgl. diese Z. **165**, 280 (1959). R. Klement

Bei der potentiometrischen Titration mit ÄDTA kann nach J. S. Fritz, M. J. Richard und S. K. Karraker[1] durch Zugabe von Komplexbildnern eine Anzahl störender Metalle maskiert werden, wodurch die Bestimmungsmöglichkeiten mit ÄDTA spezifischer werden. So lassen sich bei Gegenwart von *Citrat* Cd^{II}, Cu^{II}, Hg^{II}, Pb^{II} oder Zn^{II} neben Be^{II}, Cr^{III}, Fe^{III}, Mo^{VI}, Nb^{V}, Sb^{III}, Sn^{IV}, Ta^{V}, Th^{IV},

Ti^{IV}, UO_2^{2+}, W^{VI} und Zr^{IV} titrieren. In einzelnen Fällen kann auch *Tartrat* angewandt werden. Bei der Titration der Seltenen Erden und einiger zweiwertiger Ionen können Aluminium und Uran durch *2,4-Pentandion* oder *Sulfosalicylat* maskiert werden. Zur Titration von Zink und Kupfer in Gegenwart von Aluminium kann dieses mit *Fluorid* maskiert werden. — *Ausführung.* Man verdünnt die Probelösung, die 0,15—0,40 mMol des zu bestimmenden Metalls enthalten soll, auf 125 ml, gibt für je 0,25 mMol des störenden Metalls 10 ml einer 0,1 m Lösung des Maskierungsmittels hinzu, ferner 1 ml Pyridin und stellt mit verd. Ammoniak oder Perchlorsäure p_H 6,5—7,5 (bei Citrat, Tartrat oder 2,4-Pentandion) bzw. p_H 4,5—5,0 (bei Sulfosalicylat oder Fluorid) ein. Dann fügt man 1 Tropfen der 0,01 m Quecksilber-ÄDTA-Lösung (20 ml 0,05 m ÄDTA-Lösung + 20 ml 0,05 m Quecksilberperchloratlösung, auf 100 ml verdünnt) hinzu und titriert mit 0,05 m ÄDTA-Lösung unter Verwendung von Quecksilber-Kalomelelektroden.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1347—1350 (1958). State Coll., Ames, Iowa (USA).
G. Denk

Über Säure-Base-Titrationen und elektrometrische Titrationsmethoden berichtet H. Althoff[1]. Der klassische Säure-Base-Begriff, der wohl erstmals im Jahre 1678 von Boyle definiert worden war, ist heute nach G. M. Lewis so aufzufassen, daß Basen alle Teilchensorten sind, die ein einsames Elektronenpaar besitzen und Säuren alle diejenigen, die eine Elektronenlücke aufweisen, also von einem einsamen Elektronenpaar addiert werden können. Verf. behandelt unter Anführung von Beispielen die Säure-Base-Titration in wäßriger und wasserfreier Lösung, und bespricht ferner die elektrometrischen und Dead stop-Titrationen. Alle bei den behandelten Methoden stattfindenden physikalisch-chemischen Reaktionen werden anhand von Formeln und Diagrammen erläutert.

[1] Mitt. dtsch. pharmaz. Ges. u. pharm. Ges. DDR (Arch. Pharmaz. [Weinheim] 291, H. 7) **28**, 105—113 (1958). Pharmaz. Inst., Univ. Bonn. K. Söllner

Die Chronopotentiometrie läßt sich nach R. N. Adams, J. H. McClure und J. B. Morris[1] auch an festen Platinelektroden zur Analyse auf Amine und Phenole verwenden, wenn deren anodische Oxydation verfolgt wird. Gearbeitet wird in der Anordnung nach Ch. N. Reilley, G. W. Everett und R. H. Johns[2] an einer 5 cm^2 großen Platinfolie als Anode, die vor jeder Messung 30 sec in Chromschwefelsäure gereinigt, abgespült und vor dem Beginn der Analyse mindestens 2 min in der Meßlösung äquilibriert wird. In 10^{-3} m Jodidlösung in 1 m Schwefelsäure wird mit 1,8 mA für die Übergangszeit gefunden $\tau^{1/2} = 4{,}19 \pm 0{,}06$ (sec); $\tau^{1/2}$ ist für 1 bis $60 \cdot 10^{-4}$ m Lösungen der Konzentration linear proportional. *o-Dianisidin* und *p-Toluidin* sind in Citrat-Phosphat-Pufferlösung vom p_H-Wert 7 gut analysierbar, wenn τ als Übergangszeit nur bis zu einem bestimmten Potential gemessen wird, da $i \cdot \tau^{1/2}$ bei teilweise irreversiblen Reaktionen mit der Zeit sinkt, und wenn die Analyse stets bei der gleichen Stromstärke wie die Eichkurve ausgeführt wird. Das gleiche trifft für die Bestimmung von 5-Amino-2-naphthalinsulfonsäure in 0,2 m Dinatriumhydrogenphosphatlösung zu. Untersucht wird ferner das *Verhalten* von *α- und β-Naphthol*, *α- und β-Naphthylamin*, *8-Amino-2-naphthalinsulfonsäure*, *H-Säure*, *6-Amino-2-naphthalinsulfonsäure*, *6-Amino-1-naphthol-3-sulfonsäure*, *7-Anilino-1-naphthol-3-sulfonsäure* und von *Diphenylamin*. Beste Werte werden in Pufferlösung vom p_H-Wert 9 erhalten. Schließlich wird auch über Untersuchungen zur *Analyse von Anilin*, *N-Methyl-* und *N-Dimethylanilin* berichtet (p_H 6—8), die sich ebenfalls bestimmen lassen, wenn als Übergangszeit diejenige bis zum Anstieg des Potentials auf einen um 0,10 V edleren Wert als $E_{1/4}$ verwendet wird. — Der Einfluß der Substituenten auf $E_{1/4}$ wird diskutiert. Von analytischem Interesse ist dabei, daß

p-Toluidin neben Acetyl-p-toluidin (das letzte wird nicht oxydiert) und N-Methyl- oder N-Dimethylanilin neben Anilin nach dieser Methode bestimmt werden können.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 471—475 (1958). Univ. Lawrence, Kan. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **27**, 483 (1955); vgl. diese Z. **150**, 204 (1956). K. Cruse

Qualitativer Analysengang. *Zur Darstellung von Thioacetamid im Laboratorium* geben W. F. O'Connor, G. W. Cogswell und E. J. Moriconi[1] folgende verbesserte *Arbeitsweise* an: 3,5 l Benzol werden in einem 5 l-Dreihalskolben unter Rückfluß auf 70° C erhitzt und unter ständigem Rühren (Rührwerk) mit 150 g Acetamid versetzt. Nachdem sich alles Acetamid gelöst hat (nach etwa 5 min), werden unter weiterem Rühren langsam (im Verlauf von 5—10 min) 110 g Phosphorpentasulfid zugegeben. Man erhitzt das Reaktionsgemisch unter ständigem Rühren noch weitere 30 min auf 70—75° C (dabei färbt sich die ursprünglich grüne Lösung dunkelgelb), dekantiert die klare Lösung in einen Becher (dabei muß darauf geachtet werden, daß die dunkelbraune ölige Substanz quantitativ im Kolben zurückbleibt), kühlt ab und läßt das Thioacetamid auskristallisieren. Nach etwa 2 Std wird das Kristallisat auf einem Filter gesammelt und an der Luft getrocknet. Um die Ausbeute zu erhöhen (sie beträgt maximal etwa 35—40%) und gleichzeitig das Lösungsmittel zurückzugewinnen, wird die Mutterlauge auf $^1/_3$ ihres Volumens eingeengt, danach abgekühlt und wie beschrieben weiterbehandelt. Nachdem etwa 90% des Lösungsmittels abdestilliert worden sind, wird der Eindampfrückstand filtriert und erst aus einem Gemisch aus Toluol und Petroläther, danach aus 95%igem Äthanol umkristallisiert. Das erhaltene Thioacetamid kann ohne weitere Reinigung als Reagens in der qualitativen Analyse verwendet werden.

N. Isenberg, E. M. Perlman, R. L. Puryear und S. A. Sparks[2] berichten über die *Fällung von Quecksilber(II) mit Thioacetamid*. Bei der Reaktion von Quecksilber(II)-salzen mit Thioacetamid werden unter verschiedenen Reaktionsbedingungen unterschiedlich gefärbte Sulfidniederschläge erhalten[3] (orangefarben oder dunkelbraun), die sich nicht in 6 m Salpetersäure lösen und daher in jedem Falle eine quantitative *Trennung des Quecksilbers* vom *Cadmium, Wismut, Kupfer* und *Blei* ermöglichen. Es wird empfohlen, die Probelösung auf eine 2 m Wasserstoffionenkonzentration einzustellen, wenn an Stelle von Schwefelwasserstoff Thioacetamid zur Sulfidfällung verwendet wird. Zum *Quecksilbernachweis*, der in üblicher Weise mit Zinn(II)-chloridlösung durchgeführt werden kann, löst man die erhaltenen HgS-Niederschläge in Königswasser.

Zur Trennung des Bleis von Wismut, Kupfer und Cadmium in der qualitativen Analyse empfiehlt L. Lehrman[4] eine einfache Methode, bei der das Blei aus salpetersaurer Lösung mit Ammoniumsulfat niedergeschlagen wird. — *Ausführung.* Etwa 1,5 ml der salpetersauren Probelösung werden mit 0,4 g Ammoniumsulfat versetzt. Man rührt, bis sich alles Ammoniumsulfat gelöst hat, läßt das Reaktionsgemisch 2 min stehen, zentrifugiert, spült die überstehende Lösung in einen Becher und wäscht den Rückstand ($PbSO_4$) noch 2 mal mit je 0,5 ml Wasser. Wismut, Kupfer und Cadmium können dann im Zentrifugat in üblicher Weise nachgewiesen werden.

Zur einwandfreien Trennung von Kupfer und Arsen muß nach J. T. Stock[5] die Schwefelwasserstoffällung oberhalb 95° C durchgeführt werden. Dabei wird das Kupfer als Sulfid (und nicht als Thioarsenit) niedergeschlagen, das sich (im Gegensatz zum Thioarsenit) bei der anschließenden Behandlung mit Ammoniumpolysulfid nicht wieder löst. Um eine einwandfreie Trennung zu gewährleisten, wird daher empfohlen, die Probelösung während der H_2S-Fällung im kochenden Wasserbad zu erhitzen.

Zum Nachweis von Kupfer und Cadmium eignet sich nach H. G. Husted[6] die folgende Methode, bei der die Verwendung von Kaliumcyanid vermieden wird. —

Ausführung. 6 Tr. der tiefblauen ammoniakalischen Probelösung werden mit 5 Tr. 5 m Essigsäure angesäuert. Die erhaltene blaßblaue Lösung wird mit einem Überschuß (6 Tr.) 8 m Natronlauge versetzt (dabei werden das Cadmium sowie ein Teil des Kupfers niedergeschlagen). Man zentrifugiert, dekantiert die überstehende tiefblaue Lösung und wäscht den Rückstand mit 6 Tr. dest. Wasser. Zum *Kupfernachweis* wird die dekantierte Lösung mit 5—6 Tr. Eisessig angesäuert und mit 2 Tr. 0,2 m $K_4[Fe(CN)_6]$-Lösung versetzt. Ein roter Niederschlag von $Cu_2[Fe(CN)_6]$ bestätigt die Anwesenheit von Kupfer. — Zur vollständigen Trennung der beiden Kationen löst man die *Cadmiumfällung* in 1 Tr. 5 m Salzsäure, gibt zu der Lösung nacheinander 3 Tr. 30%ige Natriumcitratlösung, 3 Tr. 20%ige Glucoselösung und 2 Tr. 4 m Natronlauge, mischt gut, erhitzt das Reaktionsgemisch 2 min im kochenden Wasserbad (dabei wird das restliche Kupfer als Cu_2O niedergeschlagen), zentrifugiert und dekantiert die überstehende bernsteinfarbene Lösung, die zum Cadmiumnachweis mit 2 Tr. 5 m Salzsäure und 10 Tr. gesätt. wäßriger Thioacetamidlösung versetzt wird. Man erhitzt 1 min im kochenden Wasserbad und gibt dann 2 Tr. 0,5 m Natronlauge zu. Bei Gegenwart von Cadmium wird ein gelber Sulfidniederschlag erhalten.

C. C. Boyd und W. K. Easley[7] beschreiben ein Verfahren zur *Trennung von Kupfer und Cadmium*, bei dem das Kupfer in seiner 2wertigen Form als komplexe 8-Hydroxychinolinverbindung mit Chloroform extrahiert wird. — *Arbeitsweise.* 5 Tr. der tiefblauen ammoniakalischen Probelösung mit nicht mehr als 2 mg Cu werden tropfenweise mit 6 m Salzsäure versetzt, bis ein Farbwechsel zu beobachten ist. Anschließend bringt man die Lösung mit 1 m Natriumacetatlösung auf etwa p_H 6, gibt dann noch etwa 1 ml gesätt. Kaliumchloridlösung zu, schüttelt die Lösung zur Extraktion des Kupfers 3 min mit dem gleichen Volumen einer 0,04 m Lösung von 8-Hydroxychinolin in Chloroform, zentrifugiert, verwirft die organische Schicht, alkalisiert die wäßrige Phase mit 5 Tr. 4 m Natronlauge und fällt das *Cadmium* in üblicher Weise durch Einleiten von Schwefelwasserstoff.

J. F. Petroccione[8] empfiehlt einen *einfachen Nachweis von Cadmium bei Gegenwart von Kupfer.* Man trägt 1 Tr. der ammoniakalischen Probelösung auf Filterpapier auf und versetzt mit 1 Tr. Reagenslösung (0,2 g Titangelb werden in 70 ml Methanol gelöst, die Lösung mit dest. Wasser auf 100 ml verdünnt). Bei Gegenwart von Cadmium ist eine orangerote Farbreaktion zu beobachten.

Zum Nachweis von Bromid und Jodid verwendet R. Filler[9] an Stelle von Chlorwasser eine 1%ige wäßrige Lösung von N-Chlorosuccinimid als Oxydationsmittel. Man löst 10 g des Reagenses unter Erwärmen in 1 l dest. Wasser. Die erhaltene Lösung ist länger als 1 Monat brauchbar.

[1] J. chem. Educat. **35**, 405—406 (1958). Fordham Univ. New York (USA). — [2] J. chem. Educat. **35**, 404 (1958). Skidmore College, Saratoga Springs, N.Y. (USA). — [3] Vozza, J. F.: J. Chem. Educat. **35**, 145 (1958). — [4] J. chem. Educat. **35**, 406 (1958). City College, New York (USA). — [5] J. chem. Educat. **35**, 402 (1958). Univ., Storrs, Conn. (USA). — [6] J. chem. Educat. **35**, 403—404 (1958). Regis College, Weston, Mass. (USA). — [7] J. chem. Educat. **35**, 406—407 (1958). State College, Johnson City, East Tenn. (USA). — [8] J. chem. Educat. **35**, 402 (1958). River Dell Reg. High School, Oradell, N.J. (USA). — [9] J. chem. Educat. **35**, 407 (1958). Inst. Technol., Chicago, Ill. (USA). K. Machner

Verwendung von o-Dithiolen in der qualitativen Analyse. R. E. D. Clark[1] empfiehlt in einer weiteren Mitteilung[2] *Toluol-3,4-dithiol* (Dithiol) als Fällungsreagens für zahlreiche Kationen. Dithiol hat ganz ähnliche Eigenschaften wie Schwefelwasserstoff, ist jedoch weitaus vielseitiger anwendbar. Seine Metallderivate (Mercaptide), die sich unter geeigneten Reaktionsbedingungen aus salzsaurer Lösung stufenweise (oft mit klarer Trennung) niederschlagen lassen, zeigen charakteristische

Farbunterschiede. Für viele Elemente kann der Nachweis mit Dithiol spezifisch gestaltet werden. Die einzelnen Anwendungsmöglichkeiten des Reagenses in der qualitativen Analyse werden ausführlich diskutiert.

[1] Analyst **83**, 396—402 (1958). Techn. College a. School of Art., Cambridge (England). — [2] Weitere Mitteilungen: CLARK., R. E. D.: Analyst **82**, 177 (1957), **83**, 103, 431 (1958); vgl. diese Z. **160**, 144 (1958); **164**, 345 (1958).

K. MACHNER

Zum Nachweis einer Reihe von Kationen mit Hilfe ihrer kristallinen Chinolinverbindungen empfehlen J. M. MUTCHLER und H. B. BRADLEY[1] die *Polarisationsmikroskopie*. Die Chloride von *2-wertigem Kobalt, Kupfer, Eisen, Mangan, Quecksilber, Nickel, Cadmium, Calcium, Indium und Zink* sowie von *1wertigem Kupfer* und *Thallium* reagieren (in fester Form) mit Chinolin unter Bildung charakteristischer, zum Teil gefärbter Kristallverbindungen, die sich gut unterscheiden lassen. Außerdem kann Chinolin auch als Gruppenreagens (für die genannten Metallchloride) in der mikroskopischen Analyse verwendet werden. — *Ausführung.* Die trockene Probe (Lösungen werden vorher bei 95—100° C zur Trockne verdampft) wird zunächst unter einem Polarisationsmikroskop näher betrachtet. Man gibt dann 1 Tr. verdünnte Salzsäure zu, erwärmt den Objektträger, um etwa vorhandene Metallteilchen zu lösen und Nitrate, die den Kristallnachweis stören würden, in die entsprechenden Chloride zu überführen, verdampft zur Trockne, versetzt mit 1 Tr. synthetischem Chinolin (Eastman Reagens 218) und beobachtet die Kristallbildung. Falls keine gut ausgebildeten Kristalle erhalten werden, erhitzt man das Reaktionsgemisch vorsichtig und läßt anschließend langsam abkühlen. Das Original enthält die Charakteristica der kristallinen Chinolinverbindungen aller genannten Metallchloride und zeigt die entsprechenden Mikrophotographien.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1371—1374 (1958). Linde Co., Div. of Union Carbide Corp., Tonawanda, N.Y. (USA). K. MACHNER

Trennung von Elementen durch Extraktion mit leichtschmelzenden organischen Stoffen. V. I. KUZNECOV und I. V. SERJAKOVA[1] berichten über ihre Versuche, verschiedene feste, leichtschmelzbare organische Stoffe und deren Gemische als Extraktionsmittel anzuwenden. Dabei erweisen sich *α-Naphthylamin* sowie *Gemische von Amylacetat mit Paraffin, Ceresin, Stearinsäure, Benzoesäure, Zimtsäure* oder *Naphthalin* als besonders geeignet, wobei man die Extraktion nach dem Oxonium- oder Ammoniummechanismus durchführt und die Ionen in ziemlich beständige komplexe Anionen überführt. Die *Ausführung* ist relativ einfach. In ein Reagensglas mit 1 ml der Probe (enthaltend 1—10 mg des zu extrahierenden Elements) setzt man 4 Tr. 6 n Salzsäure und 1 ml 20%ige Ammoniumhalogenid- oder rhodanidlösung hinzu, danach etwa 2 g α-Naphthylamin, das man durch Eintauchen in heißes Wasser zum Schmelzen bringt. Dann schüttelt man 1 min, läßt abkühlen und gießt die wäßrige Lösung einfach vom verfestigten Naphthylamin ab. Das extrahierte Element kann man mit Natronlauge oder Ammoniak reextrahieren und die Verteilung des Elements (bei Zusatz radioaktiver Isotopen) bestimmen. Nach diesem Verfahren kann man *große Kupfermengen von Kobalt trennen*: die Prüflösung (Co-Nitrat + 100—150 mg Cu) wird eingedampft; danach löst man den Rückstand in 1,5 ml 0,2 n Salzsäure, spült mit 3 ml 20%iger KBr- oder NH_4Br-Lösung nach (in ein Reagensglas), setzt 2 Tr. 20%ige NH_4J- oder KJ-Lösung und etwa 1 g α-Naphthylamin hinzu, schmelzt wie oben durch Eintauchen in heißes Wasser und schüttelt 1—2 min, gießt nach dem Erstarren die wäßrige Lösung ab und wäscht nach, und zwar mit einem Gemisch von 100 ml 20%iger Bromid-, 30 ml Jodid- und 10 ml 6 n Salzsäurelösung (nach erneutem Schmelzen des zurückgebliebenen Naphthylamins). Die vereinigten wäßrigen Lösungen kann man noch 1—2 mal mit

frischem Naphthylamin extrahieren, bis dessen Färbung durch Cu fast kein Nachdunkeln mehr aufweist. Die Cu-freie Lösung wird sodann eingedampft, mit Salzsäure erneut eingedampft (zwecks Überführung in Chloride), danach löst man den Rückstand in verdünnter (1:5) Schwefelsäure und bestimmt Co mit Nitroso-R-salz. — *Große Mengen Eisen* kann man von *Spuren an Aluminium* aus 10—11 n Salzsäure mit einem *Gemisch von Amylacetat und Paraffin* (2:1 oder 3:1) trennen, danach bestimmt man das Aluminium mit „Arsenazo". Nach 2 Extraktionen sind 80 mg Fe von 3 μg Al (Fe-Überschuß 1:25000) getrennt worden, wonach 80% des Aluminiums noch gefunden worden sind. Mit diesem einfachen Verfahren dauert die Trennung nur 10—15 min. — *Sebacinsäure-dimethyläther* extrahiert sehr gut $FeCl_3$ aus 10 n Salzsäurelösung. Ester von Säuren, die Oxygruppen enthalten, extrahieren Fe viel schlechter als Säureester ohne Oxygruppen. Man extrahiert das Eisen auf die angegebene Art, reextrahiert es mit Wasser und bestimmt den Verteilungskoeffizienten colorimetrisch mit Sulfosalicylsäure in der wäßrigen und Reextraktionsschicht.

[1] Zavodskaja Laborat. **23**, 1176—1180 (1957) [Russisch]. Vernadsky-Inst. Akad. Wiss. UdSSR. A. v. Wilpert

Als alkalimetrische Urtitersubstanz wird von D. A. Keyworth und R. B. Hahn[1] *Natriumhydrogendiglykolat* vorgeschlagen. Die Verbindung hat das hohe Äquivalentgewicht 156,075, läßt sich leicht trocknen und ist an der Luft sehr beständig. Mit Phenolphthalein ergibt sich ein scharfer Umschlagspunkt. *Zur Darstellung* löst man 180 g Natriumhydroxyd in 500 ml Wasser und 600 g Diglykolsäure in 1000 ml Wasser, filtriert beide Lösungen und titriert 10 ml der Säure mit der Natronlauge gegen Phenolphthalein. Daraus berechnet man, wie viel Natronlauge verbraucht wird, um die Diglykolsäurelösung zur Hälfte zu neutralisieren und setzt dann den Rest der Säurelösung mit der abgemessenen Menge Lauge unter Rühren um. Nach dem Abkühlen filtriert man durch eine Glasfilternutsche, löst den Rückstand unter Erwärmen, in 4,5 l Wasser, filtriert heiß, läßt abkühlen und filtriert wieder. Man löst das Salz in 2,8 l Wasser, kristallisiert ein zweites Mal um und trocknet den Rückstand über Nacht bei 110° C. Die Reinheit des Salzes beträgt 100,00 $\pm$ 0,05%.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1343—1344 (1958). Wayne State Univ., Detroit, Mich. (USA). G. Denk

Tertiäres Butylhypochlorit kann nach C. E. van Hall und K. G. Stone[1] als *Oxydationsmittel* für Titrationen in wasserfreiem Medium, meist Eisessig, dienen. Das Reagens wird nach H. M. Teeter und E. W. Bell[2] dargestellt; die 0,1 n Lösung ist in dunkler Flasche einigermaßen beständig, durch Säuren wird sie rasch zersetzt, langsam auch schon durch Wasser. Mit anorganischen Chloriden bildet sich Chlor. Die Lösung kann mit KJ eingestellt werden. Das nach der Gleichung $(CH_3)_3COCl + 2HJ = (CH_3)_3COH + HCl + J_2$ ausgeschiedene Jod wird mit Thiosulfat titriert. Die Titerstellung kann auch mit einer Lösung von Natriumoxalat in einem Essigsäure-Wassergemisch (4:1) vorgenommen werden: $(CH_3)_3COCl + Na_2C_2O_4 + CH_3COOH = (CH_3)_3COH + 2CO_2 + NaCl + CH_3COONa$. Zur Lösung von 0,25 g $Na_2C_2O_4$ in 20 ml H_2O + 55 ml Eisessig werden 25 ml der Reagenslösung gegeben. Zur Bestimmung des überschüssigen Oxalats wird die Lösung nach 1 Std, während der häufig umgeschüttelt werden muß, mit 120 ml Wasser, 30 ml konz. Salzsäure und 5 ml 0,005 m JCl-Lösung versetzt und bei 50° C mit Cer(IV)-sulfatlösung gegen Ferroin titriert. — Bei der Titration mit tertiärem Butylhypochlorit kann der Endpunkt potentiometrisch mit Platin-Kalomel- bzw. Ag-AgCl-Pt-Elektroden oder amperometrisch unter Vorgabe von 50 mV mit Platinelektroden

bestimmt werden. Nach beiden Methoden sind bei der Analyse von Styrol gute Werte erhalten worden. Dabei werden auf 100 ml der Probelösung 0,5 g LiCl zugesetzt.

[1] Analyt Chemistry **30**, 1416—1418 (1958). State Univ. East Lansing, Mich. (USA.) — [2] Org. Syntheses **32**, 20 (1952). G. Denk

Anwendungen von Jodmonochloridlösung als Maßflüssigkeit. In Erweiterung der früheren Arbeiten[1] befassen sich J. Číhalík und J. Voráček[2] mit der Verwendung von JCl-Lösung zu *Mikrotitrationen*. Es werden die Bedingungen für die potentiometrischen *Bestimmungen von Arsen(III), Hexacyanoferrat(II) und Jodid* (siehe auch [3]) im Mikromaßstab untersucht. — *Ausführung.* Als Indicatorelektrode dient die glatte Platinelektrode, als Vergleichselektrode die für Mikrobedingungen modifizierte gesätt. Kalomelelektrode. Alle Titrationen können an der Luft vorgenommen werden, man kann auch die Lösungen während der Titration mit Luft durchmischen. Die 0,001 m und 0,0001 m Maßlösungen von JCl bereitet man durch Verdünnung der 0,1 m Lösungen[3] mit 2 m Salzsäure. *Arsen(III)* wird am besten im $NaHCO_3$-Medium titriert. In 3—5 ml Gesamtvolumen lassen sich mit 0,001 m JCl-Lösungen (bis zur Menge von 5 μg As^{III} in der Probe) oder mit 0,0001 m Lösungen (0,5—5 μg As) durchführen; die mittlere Abweichung der Bestimmung beträgt $\pm$ 0,72%; das Inflexionspotential liegt bei 0,38 V (gegen die gesätt. Kalomelelektrode), die Potentiale stellen sich rasch ein. — *Die Bestimmung von Cyanoferrat(II)* erfolgt unter ähnlichen Bedingungen (Puffer: $NaHCO_3$; p_H 8,2.) Im Gesamtvolumen von 3—5 ml beträgt die mittlere Abweichung im untersuchten Mengenbereich von 400—2 μg Cyanoferrat(II) ungefähr $\pm$ 0,6%. Das Inflexionspotential liegt bei 0,36 V. Die Titration kann in umgekehrter Richtung zur Titerstellung der JCl-Maßlösungen dienen, man muß aber mit frisch bereiteten Cyanoferratlösungen arbeiten. *Die Jodidbestimmung* wird am besten in dem schwach sauren Medium der 0,05 m Salzsäure ausgeführt. 270—0,1 μg Jodid können in 5 ml Gesamtvolumen auf etwa 0,5—1,4% genau erfaßt werden; Cl^-- und auch Br^--Ionen (die letzten nur bis zum Verhältnis 1:150) stören die Bestimmung nicht; das Inflexionspotential beträgt 0,55 V. Das Titrationsverfahren im umgekehrten Sinne eignet sich vorzüglich zur Titerstellung der JCl-Maßlösungen mit Kaliumjodid als Urtitersubstanz.

[1] Vgl. diese Z. **165**, 460 (1959). — [2] Chem. Listy **52**, 1269—1273 (1958) [Tschechisch]. Univ. Prag (ČSR). — [3] Číhalík, J., u. D. Vavreinová: Chem. Listy **49**, 693 (1955); vgl. diese Z. **150**, 283 (1956). M. Hřivnáč

Anwendung der Thiosemicarbazide in der Analyse. N. V. Koškin[1] beschreibt ein maßanalytisches Verfahren der *Quecksilberbestimmung mit 1-Phenylthiosemicarbazid* (PSC), das auf der Bildung des sehr beständigen hellgelben Hg^{II}-Komplexes $[Hg(C_6H_5NHNHCSNH_2)_2]^{2+}$ beruht. Der Komplex entsteht auch aus Hg^I-Salz; ein zweites Atom Hg^I wird dabei metallisch abgeschieden. Bei der Titration dient Cu^{2+}-Ion als Indicator, das mit dem Reagens einen tiefblauen Komplex bildet. Läßt man zu der mit dem Indicator versetzten PSC-Lösung die Quecksilbersalzlösung zufließen, so tritt im Äquivalenzpunkt ein scharfer Farbumschlag von Blau nach Gelb ein. Die umgekehrte Titration gelingt nicht. Silber, Zinn(IV), Chlorid, Bromid stören. Zur Entfernung der Halogene fällt man das Quecksilber mit Lauge und löst den abfiltrierten Niederschlag dann in Salpetersäure. Das Titrationsverfahren kann auch zur *Bestimmung der Thiosemicarbazide* mit Quecksilber(II)-salz dienen. — *Quecksilberbestimmung.* Das Reagens PSC wird aus Phenylhydrazinhydrochlorid und Ammoniumrhodanid leicht in analysenreinem Zustand erhalten (Arbeitsvorschrift im Original). Man stellt daraus durch direkte Einwaage eine 0,04—0,005 n Lösung in 70 80%iger Essigsäure her, die lange titerbeständig ist. Eine gemessene Menge dieser Lösung wird mit 2—3 Tr. 0,1 n $Cu(NO_3)_2$-Lösung versetzt. Die zu bestimmende

0,1—0,5 n Quecksilber(II)-nitratlösung läßt man bis zum Farbumschlag zufließen. Bei der Bestimmung von Quecksilber(I)-nitrat wird der Farbumschlag durch das abgeschiedene Quecksilbermetall etwas beeinträchtigt. Er wird aber deutlich sichtbar, wenn man je 1 ml der PSC-Lösung (im Ganzen 1—3 ml) mit 75—100 ml Wasser verdünnt. 1 ml 0,05 n Reagenslösung entspricht 5,015 mg Hg^{II} bzw. 10,03 mg Hg^{I}.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 308—311 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Technol. Inst. Lebensmittelind., Leningrad. A. v. Wilpert

Moderne Methoden der Gasanalyse, die sich zu einer Automatisierung eignen, beschreibt G. Kainz[1]. Es sind die bekannten magnetischen, thermischen, massenspektrometrischen, optischen und chromatographischen Methoden zusammengestellt und diskutiert.

[1] Österr. Chemiker-Ztg. **59**, 45—51 (1958). Univ. Wien (Österreich).
D. Jentzsch

IV. Spezielle analytische Methoden

1. Analyse von Lebensmitteln

Zur quantitativen Bestimmung von Jod in Milch benützen Š. Németh und M. Menkyna[1] das Verfahren zur Blutjodbestimmung nach S. B. Barker, M. J. Humphrey und M. H. Soley[2]. Sie ersetzen nur das Trocknen im Trockenschrank über Nacht durch zweistündiges Eintauchen in ein siedendes Wasserbad. Zur Colorimetrie bedienen sie sich des Verfahrens von A. Grossmann und G. Grossmann[3]. Nach dieser Methode sind der Milch zugesetzte kleine Mengen an Jodid und Dijodtyrosin mit nur geringen Abweichungen wiedergefunden worden.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 510—512. Slowak. Akad. Wiss., Bratislava (ČSR). — [2] J. clin. Invest. **30**, 55 (1951); vgl. diese Z. **135**, 458 (1952). — [3] J. clin. Endocrinol. **15**, 354 (1955). L. Acker

Zur Untersuchung von Citronenöl bedient sich R. A. Bernhard[1] der Gasverteilungschromatographie. Er benutzt dabei die früher[2] im einzelnen beschriebene Apparatur. — Zur *Durchführung* wird ein Glasrohr von 3,50 m Länge und 6 mm lichter Weite verwendet. Die flüssige Phase besteht aus Polyäthylenglykol (Carbowax 600) das auf Diatomeenerde (Sil-0-Cel C-22, 60—80 mesh) im Verhältnis 40:100 aufgetragen wird. Trägergas ist Helium bei einem Eingangsdruck von 2,1 atü und einer Strömungsgeschwindigkeit von 25 ml/min, die Säulentemperatur beträgt 177° C. Es wird ein selbstregistrierendes Potentiometer mit einer Laufgeschwindigkeit von 46,64 cm/Std benutzt. Die an reinem Citronenöl erhaltenen Kurven weisen 5 Maxima auf, deren Absolutwerte bei reinen Proben in einem ziemlich konstanten Verhältnis zueinander stehen, so daß sich Zusätze an künstlichen Substanzen leicht erkennen lassen.

[1] Food. Res. **23**, 213—216 (1958). Fruit Vegetable Chem. Lab., Pasadena, Calif. (USA). — [2] Bernhard, R. A.: J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 915 (1957); vgl. diese Z. **161**, 460 (1958). L. Acker

Vitamine. *Die spektrophotometrische Bestimmung von Vitamin A und Carotin in Margarine,* die Sesamöl — zur leichteren Unterscheidung von Butter — enthält, begegnet nach den Untersuchungen von B. Barnholdt[1] insofern Schwierigkeiten, als Sesamolin und Sesamin, zwei Bestandteile des Sesamöles, bei etwa 287—288 mμ ihr Absorptionsmaximum haben und die Absorption von Vitamin A bei 325 mμ stören. Beide Verbindungen begleiten das Vitamin A in die unverseifbare Fraktion.

Die Chromatographie an Dicalciumphosphat führt auch in größeren Kolonnen nicht zu einer einwandfreien Trennung. Diese Aufgabe ist nur durch Chromatographie an zwei verschiedenen Säulen zu lösen. Die erste Säule besteht aus Aluminiumoxyd bestimmter Aktivität (mit 2,6% Wasser), wobei mit Petroläther, der wechselnde Mengen an Äther bzw. Dioxan enthält, eluiert wird. Die Petrolätherlösung des Rückstandes vom ersten Eluat gibt man dann auf eine Säule aus Dicalciumphosphat, die oben eine dünne Schicht von alkalisch behandeltem Aluminiumoxyd mit 11% Wasser besitzt. Als Elutionsmittel dient Petroläther mit 5—7 Vol-% Äther. Eine ausführliche Arbeitsvorschrift ist im Original enthalten.

[1] Internat. Z. Vitaminforsch. 28, 365—386 (1958). Staatl. Vitamin-Lab., Kopenhagen (Dänemark). L. Acker

Eine neue spektrophotometrische Methode zur Bestimmung von Pyridoxal-5-phosphat(I) beruht auf seiner Reaktion mit Kaliumcyanid, durch die das Extinktionsmaximum bei 385 mμ verschwindet und das bei 320 mμ mit leichter Verschiebung gegen kürzere Wellenlängen zunimmt[1]. Nach V. Scardi und V. Bonavita[2] entspricht die Abnahme der Extinktion bei 385 mμ 0,020 je μg I im Mengenbereich von 0—25 μg. — *Ausführung.* 3 ml wäßrige auf p_H 7,4 eingestellte I-Lösung versetzt man mit 0,1 ml einer $3 \cdot 10^{-2}$ m KCN-Lösung in 0,05 m Phosphatpuffer (p_H 7,4) und erwärmt das Gemisch 45 min lang bei 50° C. Parallel hierzu bereitet man eine analoge Lösung aus 3 ml I- und 0,1 ml Pufferlösung. Die Messung erfolgt bei 385 mμ (Beckman-Spektrophotometer Modell DU) an beiden Proben gegen die Phosphatpufferlösung. Man bildet die Differenz der Extinktionen der Proben mit und ohne Kaliumcyanid und ermittelt den ihr entsprechenden I-Wert aus der Eichkurve. Pyridoxindihydrochlorid, Pyridoxal-äthylacetalhydrochlorid, Pyridoxaminhydrochlorid und -phosphat zeigen keine spektralen Verschiedenheiten bei der Reaktion mit Kaliumcyanid, während Pyridoxalhydrochlorid eine Extinktionszunahme zwischen 330 und 380 mμ mit einem Maximum bei 360 mμ von 0,100 für eine 10^{-4} m Lösung erkennen läßt. Bei 385 mμ ist jedoch keine spektrale Veränderung beobachtbar. Die geringfügige Extinktion der von I verschiedenen Komponenten der B_6-Gruppe bei 385 mμ überzeugt von der Notwendigkeit der Messung bei dieser Wellenlänge. Die neue Methode ist spezifischer und einfacher als die anderen bisherigen colorimetrischen Verfahren.

[1] V. Scardi, u. V. Bonavita: Acta Vitaminol. **11**, 117 (1957). — [2] Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **33**, 1701—1702 (1957). Univ. Neapel (Italien). H. Freytag

Einen Überblick über die mikrobiologische Analytik der Vitamine gibt H. Haenel[1]. Die Anwendung mikrobiologischer Verfahren ist auf die *B-Vitamine* beschränkt. Es werden die für solche Verfahren geeigneten Mikroorganismen angeführt, die Nährböden für die Erhaltung der Stämme und für den Vitaminnachweis sowie die Technik der Durchführung werden beschrieben. Am Beispiel der *Nicotinsäurebestimmung* wird ein mikrobiologisches Verfahren im einzelnen ausführlich erläutert. Für den Nachweis von *Antivitaminen* wird eine Methodik angegeben. Die Möglichkeiten der *Auxanographie* werden kurz beschrieben.

[1] Nahrung 2, 362—370 (1958). Dtsch. Akad. Wiss., Berlin. L. Acker

Zur maßanalytischen Bestimmung von Ascorbinsäure empfiehlt B. R. Sant[1] eine 0,1 n Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung als Titrand. Die Titration wird bei $p_H \sim 6$ in Gegenwart von Zinkacetat und Kaliumjodid unter Verwendung von Stärke als Indicator durchgeführt. — *Arbeitsweise.* Ein aliquoter Teil der Ascorbinsäurelösung wird in einem Erlenmeyerkolben mit 10—15 ml 15%iger Zinkacetatlösung, 2—3 Tr.

1%iger Kaliumjodidlösung und 1 ml Stärkelösung versetzt und langsam mit 0,1 n Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung bis zum Farbumschlag des Indicators titriert. 1 ml 0,1 n Maßlösung entspricht 8,806 mg Ascorbinsäure. Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten.

[1] Chemist-Analyst **47**, 65 (1958). Univ. Baton Rouge, La. (USA).

K. Machner

Bei der chemischen Bestimmung von Vitamin D in bestrahlten Hefen und in öligen Lösungen von bestrahltem Ergosterin benutzen H. Tschapke und H. Plessing[1] zur schnellen Abtrennung störender Begleitstoffe die Chromatographie an säurebehandeltem Talkum. — *Ausführung.* Bei bestrahlten Hefen werden je nach der zu erwartenden Menge an Vitamin D 0,2—1 g in einem 100 ml-Rundkolben mit 25—50 ml 1 n alkoholischer Kalilauge auf dem siedenden Wasserbad am Rückflußkühler unter Stickstoff aufgeschlossen (25 min). Bei öligen Lösungen werden 0,5—1 g mit 50 ml 2 n alkohol. Kalilauge auf die gleiche Weise 15 min lang verseift. Der Aufschluß wird in jedem Falle unter Nachspülen mit Wasser in einen Scheidetrichter übergeführt. Man schüttelt dreimal mit je 40 ml peroxydfreiem Äther aus. Die vereinigten Ätherextrakte werden zunächst mit 40 ml 5%iger wäßriger Kalilauge und dann dreimal mit je 50 ml Wasser geschüttelt. Nach Filtrieren durch eine Schicht aus wasserfreiem Natriumsulfat und Nachspülen mit Äther wird der Äther unter Stickstoff abgedampft, der Rückstand mit etwa 20 ml Chloroform aufgenommen (das Chloroform muß vorher mit Wasser gewaschen und nach Trocknen über Natriumsulfat destilliert werden). Zu dieser Lösung gibt man Talkum (Aktivierung: 200 g Talkum mit 1000 ml 2 n Salzsäure unter Umrühren 20 min lang in einer Porzellanschale kochen, absaugen; Rückstand mit heißem Wasser bis zur neutralen Reaktion waschen, über Nacht bei 100° C trocknen, dann pulverisieren) bis zur breiigen Konsistenz hinzu. Man schüttelt gut durch, läßt 2 min stehen, gibt noch etwas Chloroform zu und filtriert nun durch eine Glasfritte 3 G 3, auf der sich eine dünne Schicht aktiviertes Talkum befindet, und spült sorgfältig nach. Die so behandelte Vitamin D-Lösung wird unter Stickstoff eingeengt und in einem Meßkolben auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. 2 ml dieser Lösung werden in einem Reagensglas mit Stopfen mit 1 ml frisch bereitetem Zinn(II)-chloridreagens versetzt (0,1 g $SnCl_2 \cdot 2\,H_2O$ mit 10 ml dest. Acetylchlorid versetzen, 1 min schütteln und 1 min stehen lassen, filtrieren durch zwei ineinander gelegte getrocknete Faltenfilter, die zuvor durch Auskochen in Chloroform gereinigt worden sind). Das Ganze wird durchgeschüttelt und nach etwa 3 min, wenn das Maximum der Extinktion erreicht ist, in einer 1 cm-Küvette nach Aufsetzen eines Deckglases im Pulfrich-Photometer mit Filter S 50 gemessen. Der Gehalt an internat. Einheiten je Gramm errechnet sich zu: Extinktion × 564 × Volumen/Einwaage in Grammen.

[1] Internat. Z. Vitaminforsch. **28**, 398—403 (1958). Inst. Ernähr., Potsdam-Rehbrücke, Akad. Wiss., Berlin.

L. Acker

2. Analyse von Materialien der Industrie, des Handels und der Landwirtschaft

Spektrophotometrische Niobbestimmung in Legierungen. I. P. Charlamov, P. Ja. Jakovlev und M. L. Lykova[1] beschreiben nach sorgfältigen Untersuchungen aller Einflüsse eine Methode zur spektrophotometrischen Bestimmung von Niob in Legierungen, die Silicium, Wolfram, Molybdän und Titan enthalten. Niob wird durch Schmelzen des Oxyds mit Kalium-Natriumcarbonat in „Hexasalz" (Kaliumniobat) übergeführt. Von der wäßrigen Lösung des Salzes wird die UV-Absorption

gemessen. — *Analysengang.* Die Einwaage der Legierung wird in 60 ml siedender, 1:1 verdünnter Salzsäure gelöst, dann oxydiert man mit 3—5 ml Salpetersäure (D 1,4) und dampft vorsichtig zur Trockne ein. Man versetzt mit 40—50 ml 1:4 verdünnter Salzsäure und erhitzt eine Stunde lang im bedeckten Becherglas. Nach Zusatz von 150 ml heißem Wasser versetzt man mit etwas aschefreiem Filterschleim, erhitzt zum Sieden, filtriert nach 1—2 Std oder später und wäscht mit 1 n Salzsäure eisenfrei. Der getrocknete und veraschte Niederschlag wird im Platintiegel mit 2 g Natrium-Kaliumcarbonat bei 850—900° C geschmolzen. Den Schmelzkuchen löst man in 80—100 ml kaltem Wasser, filtriert die Lösung durch ein hartes Filter in einen 250 ml-Meßkolben und füllt mit Wasser auf. Gleichzeitig stellt man unter gleichen Bedingungen eine Lösung zur Blindprobe her. Dann mißt man die optische Dichte mit einem Spektrophotometer mit Wasserstofflampe bei 234,5 mμ in einer 10 mm-Quarzküvette. Eine Eichkurve wird mit Standardlegierungen bekannten Niobgehaltes in der oben beschriebenen Weise aufgenommen. Die Übereinstimmung mit Ergebnissen, die man durch gravimetrische und colorimetrische Bestimmungen erhält, ist gut, ebenso die Reproduzierbarkeit der Resultate.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 928—932 (1958) [Russisch]. Zentr. Wiss. Forsch.-Inst. f. Schwarzmetalle. H. Nieswand

Die Bestimmung geringer Aluminiummengen in Berylliummetall. M. Perkins und G. F. Reynolds[1] beschreiben eine auf Grund früherer Versuche[2] entwickelte Methode zur *polarographischen Bestimmung kleinster Aluminiummengen in Berylliummetall.* Da unter diesen Umständen das Verhältnis Be:Al übermäßig groß ist und entsprechende Versuche ein Verhältnis 100:1 als obere Grenze ergeben, wird eine Trennung mit Oxin und zur Entfernung der sonst störenden Elemente eine Elektrolyse an Quecksilber vorgeschaltet. — *Arbeitsvorschrift.* 4 g Beryllium, mit 50 ml Wasser übergossen, werden vorsichtig (wenn nötig mit Eiskühlung) mit 90 ml 11 m Salzsäure in kleinen Zugaben gelöst. Zum Schluß wird erwärmt und die Lösung auf 250 ml aufgefüllt. 20 ml dieser Lösung, mit 20 ml Wasser verdünnt, werden mit 40 ml Oxinlösung (0,8% ig in 2%iger Essigsäure) versetzt, mit Natriumacetatlösung (750 g/l) auf den p_H-Wert 5,0 eingestellt (p_H-Meter!) 5 min zum Sieden erhitzt, abgekühlt und im 250 ml-Scheidetrichter 4 mal mit je 10 ml Chloroform extrahiert. Sämtliche Chloroformextrakte werden dann schnell mit 10 ml 5 n Salpetersäure geschüttelt. Der Salpetersäureextrakt soll bereits nach 1 min abgenommen werden. Er wird mit dem wäßrigen Nachextrakt vereinigt. Die Choroformlösung wird noch 3 mal in der gleichen Weise mit 10 ml 5 n Salpetersäure extrahiert. Die vereinigten Salpetersäureextrakte werden mit 1 ml 20 vol%iger Wasserstoffperoxydlösung unter Zugabe von 16 m Salpetersäure zur Trockne eingedampft. Nach dem Abkühlen wird mit 2 ml 18 m Schwefelsäure abgeraucht, ebenso mit Zusatz von 16 m Salpetersäure (Vorsicht!), bis der Rückstand weiß ist. Nun wird mit 10 ml Wasser und 5 ml 5 n Überchlorsäure unter Erwärmen gelöst, auf 25 ml aufgefüllt und 1 Std mit 1 A zwischen zylindrischer Platinnetzanode und bewegter Quecksilberkathode (10 –11 cm^2 Oberfläche) elektrolysiert und das Quecksilber unter Spannung abgelassen. 20 ml der Lösung werden auf 5 ml eingeengt, mit 10%iger Natronlauge neutralisiert (Methylrot), mit 2,5 n Überchlorsäure gerade wieder angesäuert, dann mit 1 ml Überchlorsäureüberschuß, ferner mit 2 ml 2,5 n Ammoniumacetatlösung, 10 ml 0,065%iger Solochromviolett RS-Lösung versetzt und schließlich auf 25 ml aufgefüllt. Die Lösung wird 5 min auf 60—70° C erwärmt, abgekühlt, von Sauerstoff befreit (5 min) und von —0,45 bis —1,1 V gegen die Bodenanode polarographiert. Die Stufe bei —0,67 V wird ausgemessen und nach Korrektur um den Blindwert mit Eichpolarogrammen verglichen. In Kontrollversuchen liegt die Ausbeute an Aluminium stets über 95%. Bei Berylliumanalysen werden Zusätze von

50—100 ppm Al mit Fehlern von höchstens 4 ppm (Gesamtgehalt von 58—447 ppm) analysiert.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 625—631 (1958). Ministry of Supply, Woolwich (England). — [2] Perkins, M., u. G. F. Reynolds: Anal. chim. Acta **18**, 616 (1958); vgl. diese Z. **167**, 283 (1959). K. Cruse

Zur Bestimmung kleiner Beimengungen von Kobalt in metallischem Wismut extrahieren V. A. Nazarenko und G. G. Šitareva[1] das Kobalt zunächst in Form des α-Nitroso-β-naphtholkomplexes und colorimetrieren es dann mit Hilfe von Nitroso-R-salz. Es werden noch $1 \cdot 10^{-5}$ % Co im Wismut erfaßt. Das Verfahren ist mit entsprechenden Abänderungen auch zur Co-Bestimmung in anderen Metallen, z. B. in *Antimon*, *Germanium* und *Titan* anwendbar. — *Analysengang.* Man löst 1 g des feingepulverten Wismuts in 3 ml konz. Salpetersäure und verkocht die Stickoxyde. Nach Abkühlung versetzt man mit 20 ml 50%iger Natriumcitratlösung, neutralisiert mit 10 n Natronlauge gegen Phenolphthalein und gibt noch 1 ml 10 n Natronlauge im Überschuß zu. Man versetzt dann mit 1 ml einer 1%igen α-Nitroso-β-naphthollösung in Eisessig und 3 ml 2 n Salpetersäure, erhitzt im bedeckten Kolben 2 Std auf dem siedenden Wasserbad, kühlt ab, und schüttelt im Scheidetrichter 0,5 min lang mit 5 ml Chloroform aus. Man läßt den Extrakt in einen zweiten Scheidetrichter laufen und extrahiert die wäßrige Schicht zweimal mit je 5 ml Chloroform. Die vereinigten Extrakte schüttelt man 2 min mit 5 ml 0,1 n Salzsäure, versetzt sie dann im Quarztiegel mit 2 ml konz. Salpetersäure und vertreibt das Chloroform auf dem Wasserbad. Dann gibt man 0,1 ml 70%ige Perchlorsäure dazu, verdampft zur Trockne und glüht den Rückstand bei 400—500° C. Nach Abkühlung versetzt man mit 1 ml 10 n Salzsäure und verdampft wiederum zur Trockne. Den Rückstand nimmt man mit 0,2 ml 5 n Salpetersäure und 2,5 ml Wasser auf, fügt 0,2 ml 0,1%ige Nitroso-R-salzlösung und 0,5 g Natriumacetat zu und erhitzt 2 min im siedenden Wasser. Dann gibt man 0,5 ml konz. Salpetersäure (oder 0,1 ml 3%ige $KBrO_3$-Lösung + 0,5 ml 9,5 n Salpetersäure) zu, erwärmt nochmals 1 min im siedenden Wasser, kühlt und vergleicht die Färbung nach 10 min mit einer Serie von Standardlösungen.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 932—934 (1958) [Russisch]. Inst. allg. anorg. Chem. Akad. Wiss. UdSSR. H. Nieswand

Die turbidimetrische Bestimmung glasiger Phosphate wird von L. E. Cohen[1] auf Grund der Reaktion mit o-Tolidin in essigsaurer Lösung durchgeführt. Ortho-, Pyro-, Tripoly- und Trimetaphosphate sowie Sulfat, Metasilicat, Chlorid, Borat, Nitrat und nichtionische oberflächenaktive Stoffe stören nicht. Anionische oberflächenaktive Stoffe und oxydierende Agentien wie Perborate, Peroxyde und Hypochlorite reagieren jedoch mit o-Tolidin und müssen vorher aus der Probe entfernt werden. — *Arbeitsweise.* Man löst die zu untersuchende Probe mit 10—120 mg glasigem Phosphat in einem Gemisch aus 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig (organische Substanz muß vorher mit einem geeigneten Lösungsmittel extrahiert werden), filtriert (falls erforderlich), wäscht mit dest. Wasser nach und füllt im 100 ml-Meßkolben zur Marke auf. Ein aliquoter Teil (10 ml) der erhaltenen Lösung wird in einem trockenen 50 ml-Becher erst mit 5,0 ml Eisessig, dann mit 5,0 ml o-Tolidinlösung versetzt. (Man löst 0,500 g des Reagenses in 4,8 ml Eisessig und verdünnt mit 10%iger wäßriger Mannitlösung auf 100 ml; die erhaltene Reagenslösung ist etwa 10 Tage haltbar). Nach jeder Reagenszugabe wird gut gemischt. Dabei muß darauf geachtet werden, daß keine Luftblasen entstehen, die bei der anschließenden turbidimetrischen Bestimmung beträchtliche Fehler verursachen würden. Man mißt die Trübung

bei 425 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer geeigneten Eichkurve wird ausgewertet (die Eichkurve soll mit einem glasigen Phosphat möglichst ähnlicher Zusammensetzung aufgestellt werden). Im angegebenen Konzentrationsbereich folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz. Das beschriebene Verfahren eignet sich besonders zur Routinebestimmung der glasigen Bestandteile in Phosphatgemischen.

[1] Chemist-Analyst **47**, 65—67 (1958). Food. Machinery & Chem. Corp., Westvaco Mineral Products Div., Carteret, N. J. (USA). K. Machner

Bestimmung von Wolfram in Molybdänprodukten. Die Abtrennung des Wolframs von überschüssigem Molybdän erfolgt durch Mitfällung des Wolframs mit Eisenhydroxyd. A. N. Zelikman und N. N. Gorovic[1] teilen nun mit, daß das Wolfram dabei nicht vollständig erfaßt wird. Die Abtrennung mit Eisen wird gewöhnlich folgendermaßen durchgeführt: In die salzsaure Lösung gibt man $FeCl_3$, setzt Ammoniak bis zur beginnenden Trübung zu und erhitzt auf dem Wasserbad bis zur Ausflockung des Niederschlages. Man trennt den Niederschlag ab, löst ihn in Salzsäure, fällt das Eisen mit Alkali und bestimmt das Wolfram colorimetrisch als Rhodanokomplex. Verff. haben die Vollständigkeit der Wolframfällung mit Hilfe des Wolframisotops 185 in Lösungen mit einem Verhältnis von Mo:W = 100:1 geprüft. Es ergibt sich, daß nur etwa 70—79% Wolfram mitgefällt werden, der Rest bleibt in Lösung.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 940—941 (1958) [Russisch]. Kalinin-Inst. für Gold und Buntmetalle, Moskau. H. Nieswand

Zur Bestimmung von Schwefelspuren in flüchtigen organischen Flüssigkeiten beschreiben F. Martin und A. Floret[1] eine Apparatur, in der die Probe mit der Geschwindigkeit von 1 ml/min im Sauerstoffstrom verbrannt werden kann. Die

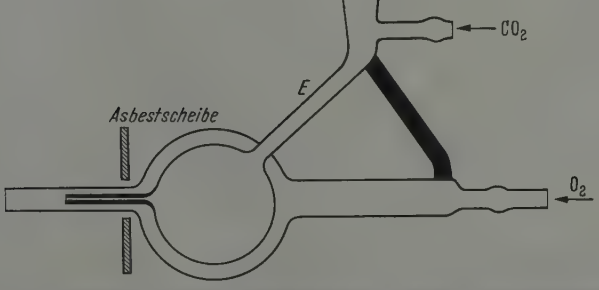


Abb. 1a u. b. Apparat zur Bestimmung von Schwefelspuren in flüchtigen organischen Flüssigkeiten nach Martin u. Floret. a Vergaserteil und Brennerteil

Schwefeloxyde werden in einem wirksamen Absorber selbst bei einer Gasgeschwindigkeit von 800 l/Std quantitativ zurückgehalten. Das besondere, für die *Bestimmung von Schwefelspuren in Benzol* entwickelte Verfahren hat sich auch zur *Schwefelbestimmung in Toluol, Essigsäure, Acetanhydrid, Cyclohexanol, Propylenglykol, vergälltem Alkohol* (White spirit) bewährt. Das Verfahren kann auch zur *Bestimmung von Halogenspuren* dienen. — *Ausführung.* In Abb. 1a ist der Vergaser-

und Brennerteil des Apparates schematisch dargestellt. Die äußere Kugel aus Pyrexglas (50 mm ⌀) wird durch einen Brenner geheizt. Die zu untersuchende Probe befindet sich in einer Bürette und tropft bei *E* in den Vergaser, also in die innere Kugel (40 mm ⌀). Die Dämpfe werden durch den CO_2-Strom (50 l/Std) durch die capillare Öffnung geführt, kommen an deren Ende mit dem Sauerstoffüberschuß (680 l/Std) zusammen und werden entzündet. Man läßt die Probe so rasch zutropfen, daß eine Flamme von 4—8 cm Länge erhalten wird (etwa 2 Tr./sec $\simeq$ 1 ml/min) Die Gase durchströmen dann das Absorptionsgefäß (Abb. 1 b). Wenn eine genügende Menge der Probe (10—20 ml) zugeflossen ist, läßt man abkühlen, spült die Absorptionsflüssigkeit in den Erlenmeyer-Kolben und kann nun das in der Lösung enthaltene Sulfat nach bekannten Methode n bestimmen. Die Verff. empfehlen dazu bei Schwefelgehalten über 0,005% die Titration mit Bariumperchloratlösung in Anwesenheit von Thorin als Indicator[2], bei Schwefelgehalten von 0,0015—0,006% die turbidimetrische Methode als Bariumsulfat, bei Schwefelgehalten in der Größenordnung von 0,0001% die Reduktion des Sulfatschwefels mit Jodwasserstoffsäure, Salzsäure und unterphosphoriger Säure zu Schwefelwasserstoff, der in Methylenblau übergeführt und durch Photometrieren bei 660 mμ gemessen wird. Die Durchführung der drei Bestimmungsverfahren ist genau beschrieben.

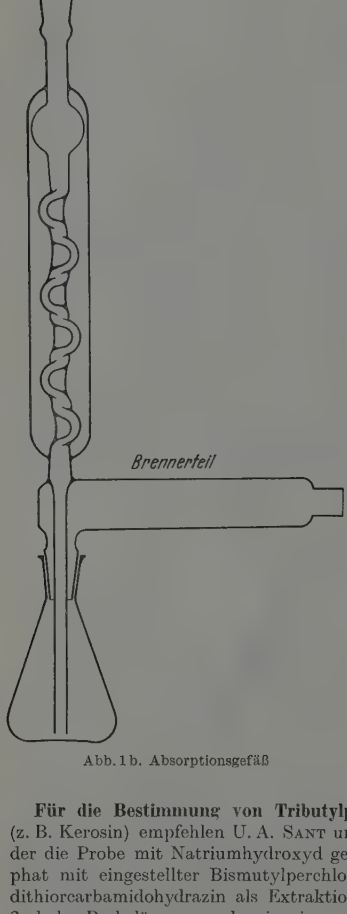


Abb. 1 b. Absorptionsgefäß

[1] Chim. analytique **40**, 120—126 (1958). Soc. des Usines Chim. Rhône-Poulenc, Vitry-sur-Seine (Frankreich). — [2] Fritz, J. S., u. S. Yamamura: Analyt. Chemistry **26**, 1666 (1954); J. S. Fritz, u. M. Q. Freeland: Analyt. Chemistry **26**, 1593 (1954).

B. Rossmann

Für die Bestimmung von Tributylphosphat in organischen Lösungsmitteln (z. B. Kerosin) empfehlen U. A. Sant und H. S. Das[1] eine einfache Methode, bei der die Probe mit Natriumhydroxyd ge-schmolzen und das erhaltene Orthophosphat mit eingestellter Bismutylperchloratlösung unter Verwendung von Diallyldithiorcarbamidohydrazin als Extraktionsindicator[2] titriert wird. — *Arbeitsweise.* 2ml der Probelösung werden in einem 30 ml-Nickeltiegel mit gepulvertem Ätznatron versetzt, bis die Flüssigkeit vollständig aufgesaugt worden ist. Man überschichtet mit weiterem Ätznatron und erhitzt bei bedecktem Tiegel zunächst mit kleiner Flamme (auf einem Drahtnetz). Das Reaktionsgemisch wird dann im Verlauf von 1 Std zum Schmelzen gebracht. Anschließend wird noch einige Zeit mit

kräftiger Flamme erhitzt, bis eine homogene Schmelze erhalten wird. Man läßt abkühlen, löst den Schmelzkuchen in möglichst wenig verdünnter Perchlorsäure, spült in einen 250 ml-Meßkolben und füllt mit Wasser zur Marke auf. Ein alipuoter Teil (100 ml) der erhaltenen Lösung wird in einem 500 ml-Erlenmeyer-Kolben gegen Lackmus neutralisiert, mit 3,5—4,0 ml 6%iger Perchlorsäure und 5 ml einer gesätt. Lösung von Diallyldithiocarbamidohydrazin in Chloroform versetzt und mit 1 m Bismutylperchloratlösung bis zum Farbumschlag des Indicators titriert. Enthält die Probe kleinere Mengen Uran und Salpetersäure (nach Uranextraktionen), so muß der Säuregrad der Testlösung vor der Titration wie bereits in einer früheren Mitteilung[2] angegeben eingestellt werden. Die Titration ist bei Gegenwart hoher Perchloratkonzentrationen mit einem negativen Fehler behaftet[3]. Um diesen Fehler zu ermitteln, muß eine Standardphosphatlösung bei Gegenwart derselben Natriumperchloratmenge, die auch in der Testlösung enthalten ist, titriert werden. 1 Mol (266,6 g) Tributylphosphat $\cong$ 1000 ml 1 m Bi^{3+}-Lösung. Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 202—203 (1958). Atomic Energy Establ., Bombay (Indien). — [2] Das, M. S., u. V. T. Athavale: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **12**, 6 (1955); vgl. diese Z. **148**, 391 (1955/56). — [3] Walton, H. F.: Principles and Methods of Chemical Analysis S. 8—9, Prentice Hall Inc., New York, 1952,

K. Machner

Zum Nachweis von Anilin und Monoalkylanilin als Verunreinigungen in N,N´-Dialkylanilinen erhitzen F. Feigl und E. Jungreis[1] die Probe mit Hexamethylentetramin (Hexamin) auf 100° C. Dabei reagieren Anilin und Monoalkylaniline (Dialkylaniline erst oberhalb 150° C) mit Hexamin unter Abspaltung von Ammoniak, der mit Nesslers Reagens empfindlich nachgewiesen werden kann. Der Nachweis wird in der Technik der Tüpfelanalyse ausgeführt. — *Arbeitsweise.* Man löst 1 Tr. der Probe in 1—2 ml Äther, versetzt die Lösung in einem Mikroreagensglas mit einigen Milligrammen Hexamin, verdampft den Äther, erhitzt das Reaktionsgemisch im kochenden Wasserbad und bedeckt die Reagensglasöffnung mit einer Filterpapierscheibe, die mit 1 Tr. Nessler-Reagenslösung befeuchtet worden ist. Bei Gegenwart von Anilin oder Monoalkylanilin in der Probe wird innerhalb von 1 bis 2 min ein brauner oder gelbe Farbfleck erhalten. Nach dem beschriebenen Verfahren lassen sich noch 5 μg Anilin oder 10 μg Monoalkylanilin in 1 Tr. der Dialkylanilinprobe nachweisen. - Um festzustellen, ob die Probe mit Monoalkylanilin allein oder auch mit Anilin verunreinigt ist, wird ein charakteristischer Anilinnachweis durchgeführt, der auf der Farbreaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd beruht. Man tüpfelt 1 Tr. der ätherischen Probelösung auf ein mit ätherischer p-Dimethylaminobenzaldehydlösung imprägniertes Filterpapier. Bei Gegenwart von Anilin ist eine gelbe Farbreaktion zu beobachten. Ein spezifischer Monoalkylnachweis braucht nicht geführt zu werden, da bei Gegenwart von Anilin unvermeidlich auch Monoalkylanilin zugegen ist.

[1] Chemist-Analyst **47**, 64 (1958). Lab. Produção Mineral, Rio de Janeiro (Brasilien).

K. Machner

Ein papierchromatographisches Verfahren zur Analyse der bei der Nitrierung von Toluol entstehenden Stoffgemische wird von V. Ettel, J. Pospíšil und Z. Deyl[1] beschrieben. Die Gemische enthalten nitrierte aromatische Kohlenwasserstoffe, Phenole, Carbonsäuren und andere, vorwiegend gefärbte Stoffe. — *Ausführung.* Es wird absteigend auf Whatman-Papier Nr. 1 und 4 gearbeitet. Das Papier wird mit einer 5%igen Lösung aus Formamid in Äthanol, fallweise auch mit einer 5%igen Lösung von Petroleum in Benzol imprägniert. Die zu untersuchenden Gemische und die Standardproben werden im allgemeinen als 1%ige

Lösungen in Pyridin-Essigsäure (1:1) aufgetragen. Aus dem zu untersuchenden Gemisch werden zuerst auf dem Whatman-Papier Nr. 4 im System Formamid-Cyclohexan die nitrierten Kohlenwasserstoffe abgetrennt. Der auf dem Startpunkt verbliebene Rest wird mit Essigsäure oder Äthanol extrahiert und dann auf Whatman-Papier Nr. 4 im System Formamid-Äthylacetat chromatographiert, wobei die Nitrophenole abgetrennt werden. Die auf dem Startpunkt oder in dessen Nähe verbliebenen nitrierten Säuren, Sulfosäuren und andere gefärbte Stoffe werden auf dem Whatman-Papier Nr. 1 im System Äthanol-Ammoniak (95:5) getrennt. Auf diese Art werden Grobchromatogramme erhalten, aus welchen jeder Fleck eluiert und neuerlich mit dem geeigneten Lösungsmittel chromatographiert wird. Für die Nitroderivate von Benzol und Toluol dienen n-Hexan und Cyclohexan auf mit Formamid getränktem Papier, für die Nitrophenole Benzol, Chloroform oder Äthylacetat ebenfalls auf mit Formamid imprägniertem Papier als Lösungsmittel. Für die nitrierten Benzolsäuren können Äthylacetat-Ammoniak (95:5) auf mit Petroleum getränktem Papier, Benzol oder Äthylacetat auf Formamidpapier sowie Äthylacetat-Ammoniak (95:5) oder Äthanol-Ammoniak (95:5) auf nicht imprägniertem Papier angewendet werden. Die Flecken der nitrierten Kohlenwasserstoffe werden nach Reaktion mit 5%iger Zinn(II)-chloridlösung in konz. Salzsäure mit Ehrlichs Reagens (p-Dimethylaminobenzaldehyd in 1,2 n Salzsäure) entwickelt. Zur Entwicklung der Nitrophenole dient das Gemisch von 15%iger $FeCl_3$- und 1%iger $K_3Fe(CN)_6$-Lösung (1:1) oder auch 10%ige Natronlauge. Nitrierte Carbonsäuren werden mit 1%iger alkoholischer Methylrotlösung erkannt, die im Verhältnis 1:1 mit 0,067 m Phosphatpuffer (p_H 7,0) gemischt wird. An den Stellen der Flecken von Stoffen mit Sulfogruppen verkohlt das Papier bei 1stündigem Trocknen bei 150° C. Die Identifizierung geschieht durch Vergleich mit Chromatogrammen von Standardproben. Außerdem können die R_f-Werte mit Hilfe der von J. Franc und J. Latinák[2] entwickelten Beziehung berechnet werden, die nur bei Orthoverbindungen (z. B. o-Nitrophenol) versagt. — In den verschiedenen, von den Verff. untersuchten Proben konnten unter anderen nachgewiesen werden: In *Dinitrotoluol* 1,2,4- und 1,3,5-Trinitrobenzol, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- und 3,5-Dinitrotoluol, 2,3,5-, 2,3,6- und 2,4,5-Trinitrotoluol, 2,4- und 2,6-Dinitrophenol; in *rohem Trinitrotoluol* 1,3,5-Trinitrobenzol, 2,4-, 2,5- und 3,5-Dinitrotoluol, 2,4,6-, 2,3,5- und 2,4,5-Trinitrotoluol, 2,4-Dinitrophenol, 2,4,5- und 2,3,5-Trinitrophenol, außerdem nichtphenolische Verbindungen; in der *Mutterlauge nach dem Raffinieren von Trinitrotoluol* 1,3,5-Trinitrobenzol, 2,4-, 2,6- und 3,5-Dinitrotoluol, 2,4,6-Trinitrotoluol, o-Nitrophenol, 2,4- und 2,6-Dinitrophenol, p-Nitrobenzoesäure, 2,3-Dinitrobenzoesäure 2,4,6-Trinitrobenzoesäure.

[1] Chem. Listy **52**, 623—630 (1958) [Tschechisch]. Chem.-technol. Hochsch. Prag. — [2] Chem. Listy **49**, 317, 328 (1955); vgl. diese Z. **150**, 390 (1956).

A. Kurtenacker

Sprengstoffgemische analysiert R. D. Sarson[1] durch selektive Extraktion und Titration in verschiedenen nichtwäßrigen Lösungsmitteln, wodurch verhältnismäßig schnell eine größere Zahl von Einzelbestandteilen quantitativ bestimmt werden kann. Man löst zunächst die organischen Verbindungen mit heißem Methylisobutylketon heraus, wobei die anorganischen (*Ammonium- und Natriumnitrat*) als Rückstand verbleiben. Diesen löst man entweder heiß in Eisessig und titriert einen aliquoten Teil 1:10 mit Chloroform vermischt mittels eines automatischen potentiometrischen Titriergerätes mit 0,3 n Perchlorsäure in p-Dioxan, wobei man NH_4- und Na-Nitrat getrennt voneinander erhält; oder, falls der Ammoniumnitratgehalt vorweg interessiert, löst man den Nitratrückstand in Dimethylformamid und titriert mit 0,1 n Alkali gegen Azoviolett (gesätt. Benzollösung von p-Nitrophenylazoresorcin) als Indicator, wobei nur das NH_4-Salz erfaßt wird. Die Summe der

anorganischen Nitrate ergibt sich, wenn man eine Probe des ursprünglichen Sprengstoffs in Eisessig löst und mit 0,3 n Perchlorsäure gegen Kristallviolett (1%ig in Eisessig) oder auch automatisch potentiometrisch titriert. — Von den im Methylisobutylketonextrakt enthaltenen Salpetersäureestern und Nitroverbindungen titriert man als Säuren potentiometrisch *Pentaerythrittetranitrat, Di- und Trinitrotoluol* (DNT und TNT) und *Hexogen* (Hexahydro-1,3,5-trinitro-s-triazin) mittels einer 0,1 n benzolischen Tetrabutylammoniumhydroxydlösung (ist Nitroglycerin ebenfalls anwesend, so kocht man vorher unter Rückfluß). Titriert man gegen den Indicator Azoviolett, so erfaßt man nur das Hexogen. — Man kann die anorganischen Nitrate auch mit Wasser aus dem ursprünglichen Sprengstoff abtrennen und die organischen Verbindungen in Dimethylformamid oder Äthylendiamin lösen und titrieren; *Nitroglycerin* und *Nitrocellulose* bestimmt man dabei entweder mit Azoviolett in Äthylendiamin oder potentiometrisch in Dimethylformamid. — Sind von den verschiedenen *Nitrotoluolen* nur DNT und TNT anwesend, so kann man diese bei potentiometrischer Titration in Dimethylformamid getrennt erfassen; ist aber auch noch Mononitrotoluol (MNT) vorhanden, dann erhält man nur die Summe aller 3 Nitrotoluole. Wählt man jedoch als Lösungsmittel Methylisobutylketon, so bleibt MNT bei der Titration unbeteiligt, während DNT und TNT einzeln erfaßbar sind.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 932—937 (1958). Olin Mathieson Chem. Corp., Mount Braddock, Pa. (USA). F. NEUMANN

Zur Papierchromatographie einiger saurer Wollfarbstoffe macht J. KOLŠEK[1] eine weitere Mitteilung. Die untersuchten Farbstoffe gehören teils der Anthralangruppe an (Produkte der Farbenfabriken Bayer A.G.), teils handelt es sich um andere wasserlösliche Farbstoffe (CIBA, ICI, Geigy, A.C.N.A. [Milano] und Casella). Ihre Auftrennung in die einzelnen Farbstoffkomponenten ist nach der bereits früher beschriebenen Methode[2] auf Filterpapier Nr. 202 (Fa. C. Binzer, Hatzfeld/Eder) mit dem Lösungsmittelgemisch Methanol-Amylalkohol-Benzol-Wasser (31:15:46:8) absteigend versucht worden. Um auch die Komponenten zu erkennen, welche nur in geringer Konzentration vorliegen, müssen die entwickelten Chromatogramme vollkommen getrocknet werden. Selbst dann können die in Spuren vorhandenen Farbstoffe oft nur beim Betrachten der Chromatogramme im durchfallenden Licht entdeckt werden. Bei verschiedenen Farbstoffgemischen ist eine gute Auftrennung erzielt worden, unabhängig davon, ob die einzelnen Farbstoffkomponenten absichtlich (zur Einstellung des Farbtones) zugesetzt worden sind, oder ob sie von den Verunreinigungen der Zwischenprodukte herrühren.

[1] Chemiker-Ztg. **82**, 457 -461 (1958). Univ. Ljubljana (Jugoslawien). — [2] KOLŠEK, J.: Chemiker-Ztg. **82**, 35 (1958); vgl. diese Z. **165**, 220 (1959). K. MACHNER

Antioxydantien, insbesondere Gallate und butylierte Phenole lassen sich nach R. TER HEIDE[1] mittels Papierchromatographie trennen. Bei der *Durchführung* ist darauf zu achten, daß die Chromatographierzylinder (Höhe 55 cm, ∅ 13 cm) durch feucht gehaltenes Filterpapier mit Sättigungsflüssigkeit ausgerüstet sind. Dadurch wird die „Schwanzbildung" in den Chromatogrammen vermieden. Die Trennung der mit Äthylacetat extrahierten Antioxydantien erfolgt nach Strichauftragung auf Whatman-Papier Nr. 1 oder Schl. & Sch.-Papier 2043b mit absteigender bzw. durchlaufender Chromatographie. Zur Trennung der Gallate wird Benzin-Benzol-Eisessig (1:1:0,5) als Laufflüssigkeit verwendet; *2- und 3-tert.-Butyl-4-methoxyphenole* werden durch Ameisensäure-Benzin (1:2, obere Phase) getrennt, wobei das Gefäß über Nacht mit den Dämpfen der unteren Phase gesättigt worden ist. Zur weiteren Abtrennung von *2,6-di-tert.-Butyl-4-methylphenol* muß das Papier mit einer 75%igen wäßrigen Äthyllactatlösung vorbehandelt sein. Die Laufflüssigkeit besteht aus Benzin, das mit vorstehender Lösung gesättigt ist. Das

Besprühen der getrockneten Chromatogramme wird mit einer Mischung aus 1 Teil Eisen(III)-sulfatlösung (0,5%ig in n Schwefelsäure) und 1 Teil Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung (0,2%ig) durchgeführt. Es bilden sich blaue Hexacyanoferrat-(II,III)-flecke. Auch die Extraktion der Antioxydantien aus Fetten und Ölen wird beschrieben.

[1] Fette u. Seifen **60**, 360—362 (1958). N. V. Chem. Fabriek „Naarden", Naarden (Holland). B. Rossmann

Über die Möglichkeit, die Zusammensetzung viscoser Petroleumfraktionen aus verschiedenen Kohlenstoffgerüsten zu berechnen, berichten S. S. Kurtz jr., R. W. King, W. J. Stout und M. E. Peterkin[1]. Sie bedienen sich dabei einer Methode, die Dichte und Refraktionswert berücksichtigt. Zur Berechnung der Molvolumina dient die Gleichung[2]: Mol.-Vol. $= 16{,}28\ n_1 + 13{,}15\ n_2 + 9{,}7\ n_3 - 6{,}2\ n_4 + 31{,}2$. Darin bedeuten n_1 die Zahl C-Atome in offenen Ketten, n_2 die Zahl C-Atome in Ringstrukturen mit Ausnahme der Brücken-C-Atome, n_3 die Zahl der C-Atome in den Brückenstellen, n_4 die Zahl der Doppelbindungen. Die berechneten Molvolumina (Standardabweichung 0,008) und Dichten (Standardabweichung 0,007) werden für zahlreiche gesätt. bzw. aromatische Kohlenwasserstoffe mitgeteilt, deren Grundskelett 15, 20, 26, 30 und 40 Kohlenstoffatome und 3, 4 oder mehr Ringe enthält. Es wird eine Beziehung angegeben, mit der bei bekannten C-Atomzahlen auf die Zusammensetzung von Ölen, deren C-Atomzahl zwischen 15 und 40 liegt, bezüglich der einzelnen C-Gerüste geschlossen werden kann. Die C-Atomzahl (Z_C) kann dabei nach folgender Gleichung aus dem Molekulargewicht (MG) und der Viscosität-Gewicht-Konstanten (VGC) berechnet werden: $Z_C = 0{,}0735\,(MG) + 7{,}00\,(VGC) - 6{,}55$. Die Ergebnisse der ausgeführten Berechnungen und Messungen werden mit denen anderer Methoden verglichen. Das Verfahren kann auf alle Typen viscoser Petroleumöle, einschließlich ausgesprochen aromatischer Öle angewendet werden, die reich an mehrkernigen Kohlenwasserstoffen sind.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1224—1236 (1958). Sun Oil Co., Marcus Hook, Pa. (USA). — [2] *Amer. Petroleum Institute*, Res. Project 42, State Univ., Univ. Park, Pa. (USA). D. Jentzsch

Über die Bedeutung und den mikroskopischen Nachweis von Tapiokawurzelmehl, das zur Herstellung von Futtermitteln wie auch als Komponente von Backhilfsmitteln oder als Stärke in steigendem Maße Verwendung findet, berichtet G. Hampel[1]. Eine Tapiokamehlbeimischung läßt sich im nativen oder im hitzebehandelten Material auf Grund der getüpfelten Tracheen bzw. Tracheiden und Geleitzellen mit Sicherheit nachweisen. Auch die Stärkekörner sind als besonders charakteristisch anzusehen (Abbildungen im Original). Die mikroskopische Darstellung der Gewebeelemente kann durch den üblichen Aufschluß mit Hilfe von wäßrigem Chloralhydrat (2 Teile Wasser + 3 Teile Chloralhydrat) erfolgen. Bei Mehlen und Backwaren wird jedoch zur *Anreicherung und Isolierung* der diagnostisch wichtigen Elemente folgendes Verfahren empfohlen: 5 g der feingemahlenen Probe werden in einem 300 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 150 ml 1,5%iger Salzsäure versetzt und 20 min im kochenden Wasserbad erhitzt. Man gießt die Suspension durch ein Bronzesieb (Maschenweite $\simeq 55\ \mu$), spült den ausgewaschenen Rückstand in einen Becher, gibt 50 ml 0,5%ige Natronlauge zu, verdünnt mit Wasser auf 150 ml, erhitzt auf 70° C, gießt erneut durch das Bronzesieb, wäscht den Rückstand aus und sammelt ihn auf einem Uhrglas. Bei sehr eiweißreichen Mischungen (z. B. Soja- oder Fischmehl enthaltenden Futtermitteln) müssen die Volumen der angewandten Reagentien verdoppelt oder verdreifacht werden.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **108**, 48—53 (1958). Bundesforsch.-Anst. Getreideverarb. Detmold. K. Machner

Über eine Methode zur Bestimmung von Äthanol und Acetaldehyd im pflanzlichen Gewebe mittels Tieftemperatur-Diffusion berichtet H. G. Wager[1]. Das Verfahren, das auf Überführung flüchtiger Substanzen durch Verdampfen aus gefrorenem Gewebe und Diffusion in wäßrige Schwefelsäure beruht, ist der Destillationsmethode vorzuziehen, da bei dieser das pflanzliche Material über einen relativ langen Zeitraum erhitzt wird und dadurch eine Bildung störender flüchtiger Verbindungen möglich ist. Als Nachteil der Diffusionsmethode gilt die sehr viel Zeit in Anspruch nehmende Diffusion der Äthanol- bzw. Acetaldehyddämpfe in die wäßrige Schwefelsäure. — *Ausführung.* In eine Kristallisationsschale mit geschliffenem Rand, der mit Vaseline als Dichtungsmaterial eingefettet ist, gibt man eine gewogene Menge 66 vol-%iger Schwefelsäure. Ein Dreifuß aus Glas mit einem Drahtbehälter, der zur Aufnahme des pflanzlichen Materials dienen soll, wird in die Schale hineingestellt und das Ganze auf −12° C abgekühlt. Nach dem Temperieren wird die Schale so rasch wie möglich dem unterkühlten Raum entnommen und das auf −20° C abgekühlte Untersuchungsmaterial in den Drahtbehälter gegeben. Die Kristallisationsschale verschließt man mit einer dicken Glasplatte, die mit einem kleinen Loch versehen ist, das mit einem Objektträger abgedeckt wird. Die bisher bei Zimmertemperatur aufbewahrte Glasplatte bewirkt ein Erweichen der Vaseline, wodurch, wie auch durch das Eigengewicht der Platte, eine gute Abdichtung gewährleistet ist und Verluste infolge des sich verändernden Luftdrucks während der Dauer der Diffusion nicht eintreten können. Die so vorbereitete Schale bringt man wieder in den auf −12° C temperierten Raum. Nach den Untersuchungen des Verf. ist für die vollständige Diffusion von Acetaldehyd und Äthanol aus Erbsen eine Zeit von 70–100 Tagen erforderlich, während anderes pflanzliches Material gegebenenfalls eine kürzere Zeit benötigt. Nach beendeter Lagerzeit wird die Schale mit dem Inhalt auf Raumtemperatur gebracht, der Dreifuß mit der Probe schnell entfernt und die Glasplatte wieder auf die Schale gelegt. Die in der Schale enthaltene Schwefelsäure bringt man durch Hinzufügen von Wasser durch die Öffnung in der Glasplatte auf eine Konzentration von genau 50 Vol-%. — Für die Bestimmung von *Äthanol* entnimmt man der 50%igen Säure eine Probe und bestimmt darin den Äthanolgehalt durch Oxydation mit Chromsäure und jodometrischer Rücktitration des Überschusses nach F. L. Kozelka und C. H. Hine[2]. Zur Bestimmung von *Acetaldehyd* entnimmt man der Schale einen aliquoten Teil der Säure und bringt diese mit reiner Schwefelsäure auf eine Konzentration von genau 6:1. Als Bestimmungsverfahren wird die modifizierte colorimetrische Methode von S. B. Barker und W. H. Summerson[3] mit p-Hydroxydiphenyl als Reagens und mit den folgenden Abänderungen angegeben: Die Mischung von Acetaldehyd und Kupfersulfat mit verd. Schwefelsäure wird mit Eiswasser gekühlt; vom p-Hydroxydiphenyl wird die doppelte Menge angewendet; die Reaktion wird bei 20° C in einem Zeitraum von 30 min durchgeführt.

[1] Analyst **83**, 291—295 (1958). Univ. Cambridge und Department Sci. Ind. Res., Cambridge (England). — [2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **13**, 905 (1941). — [3] J. biol. Chemistry **188**, 534 (1941). B. Schühlein

Schädlingsbekämpfungsmittel. *Die Bestimmung kleiner Mengen der Insecticide E 605 und Methyl- E 605 in Luft, Stäuben und gefärbtem Material* (Arbeitskleidung) gelang W. Pilz[1] auf Grund umfangreicher Versuche. Aus einer Anzahl möglicher Kondensationskomponenten für die Indophenolreaktion mit dem aus den Phosphorsäureestern durch Verseifung und Reduktion gebildeten p-Aminophenol wird unsubstituiertes Phenol als günstigste Substanz ausgewählt. Die Indophenolreaktion ist weitgehend spezifisch. Die unterste Erfassungsgrenze der Luftanalyse liegt bei $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ ppm. — *Arbeitsweise.* Durch ein mit 10 ml Absorber E (Glykolmonomethyl-

äther + n Natronlauge [1:1]) beschicktes Absorptionsröhrchen wird eine gemessene Menge Luft (1 l/min) gesaugt. Nach Überführung in einen 50 ml-Meßkolben wird der Inhalt 30 min auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Dann werden 10 ml Reagens A (38,1 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$ in 700 ml Wasser gelöst + 50 g Phenol, mit Wasser zu 1000 ml aufgefüllt) und 1 ml Titan(III)-chloridlösung (15 ml 15%iges $TiCl_3$ auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt; täglich frisch zu bereiten) zugesetzt. Darauf wird solange geschüttelt, bis das schwarze $Ti(OH)_3$ in weißes TiO_2 übergegangen ist. Nach Abkühlen füllt man zur Marke auf, filtriert durch ein trockenes Faltenfilter, verwirft die ersten 10 ml Filtrat und führt nach 6 Std die Messung bei 625 mμ mit Filter S 62,5 im Elko II gegen Wasser durch. Die gemessene Extinktion wird auf 10 mm Schichtdicke umgerechnet. Es ist dann E · 10,32 = μg E 605/ml und E · 9,34 = μg Methyl-E 605/ml Meßlösung. — Von *Stäuben* und *Rückständen* gibt man etwa 0,05 g in einen 100 ml-Meßkolben, setzt 20 ml Absorber E zu und verseift 30 min auf dem siedenden Wasserbad. Dann fügt man 20 ml Reagens A sowie 2 ml $TiCl_3$-Lösung zu und verfährt weiter wie oben angegeben. Ist die Färbung nach 6 Std zu stark, werden 5 ml in einem 50 ml-Meßkolben mit Puffer 10,2 zur Marke aufgefüllt (38,1 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$ + 120 ml 1 n Natronlauge auf 1000 ml aufgefüllt; elektrometrische p_H-Kontrolle). Bei der Berechnung ist die Verdünnung zu berücksichtigen.— Bei gefärbtem Material wird wie vorstehend verfahren. Nach dem Verseifen, Abkühlen und Auffüllen pipettiert man aus vorstehendem Kolben (A) 25 ml in einen zweiten 50 ml-Kolben (B) und setzt zu (A) 10 ml Reagens A und zu (B) 10 ml Reagens B zu (38,1 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$ in 1000 ml Wasser gelöst). Dann werden beide Kolben wie beschrieben aufgearbeitet. Gemessen wird die Lösung A gegen Lösung B. — Ebenso werden Eichkurven gewonnen. Es herrscht strenge Linearität zwischen $1{,}0 \cdot 10^{-7}$ g/ml und $2{,}4 \cdot 10^{-5}$ g/ml. Die Steigungen der Eichkurven (durch den Ursprung laufende Gerade) sind durch obige Berechnungsfaktoren gegeben.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 383—394 (1958). Farbenfabriken Bayer A.G., Leverkusen. B. Rossmann

Ein einfacher Nachweis von Dimethylparathion und Diäthylparathion in Mischungen ist nach V. Toubol[1] möglich. — *Ausführung.* Zum Nachweis der *Methylgruppe* werden 2 g mit 25 ml alkoholischer Kalilauge 20 min am Rückflußkühler verseift. Nach Abkühlung wird auf die Hälfte verdünnt, filtriert und in einen 100 ml-Meßkolben übergeführt; nach Auswaschen mit 10 ml Wasser neutralisiert man mit Schwefelsäure und füllt zur Marke auf. Zu 10 ml gibt man 5 ml 0,01 n Kaliumpermanganatlösung und 0,2 ml Schwefelsäure, wartet nach Mischung 3 min, versetzt mit 1 ml kalt gesätt. Oxalsäure und gibt wieder 1 ml reine Schwefelsäure bis zur vollkommenen Entfärbung zu. Dann läßt man nach Zusatz von 5 ml Schiffschem Reagens stehen bis eine violette Färbung auftritt. — Zum Nachweis der *Äthylgruppe* werden 2 g mit 25 ml wäßriger 1 n Kalilauge verseift und auf 100 ml aufgefüllt. Davon werden 10 ml mit 0,01 n Kaliumpermanganatlösung und anschließend mit Oxalsäure versetzt. Der Schwefelsäurezusatz wird fortgelassen und mit Schiffschem Reagens wird die Reaktion wie oben durchgeführt.

[1] Ann. Falsificat. Fraudes **50**, 336—337 (1957). Lab. Offic., Chim., Casablanca (Marokko). B. Rossmann

Zur polarographischen Bestimmung des Benzoylperoxydgehaltes einiger Kunststoffe empfehlen V. D. Bezuglyj und V. N. Dmitrieva[1] folgende *Methode.* 1,5—1,8 g des Kunststoffes werden in einen 100 ml-Meßkolben eingewogen und mit 20 ml Benzol versetzt. Wenn die Substanz sich gelöst hat, gibt man 30 ml Methanol hinzu, versetzt mit 2 g Ammoniumnitrat und mit 1 ml 0,2%iger Methylrotlösung und füllt mit Methanol zur Marke auf. Man schüttelt gut durch und

läßt 20 min stehen. Dann wird ein Teil der Lösung in das Polarographiergefäß gefüllt, 10 min im Wasserstoffstrom entlüftet und dann im Bereich von + 0,45 bis − 0,2 V polarographiert. Das Halbstufenpotential liegt bei + 0,26 V (gegen die gesätt. Kalomelelektrode). Zur Auswertung wird eine Eichkurve aufgestellt. Gehalte von 0,1 bis etwa 2% Benzoylperoxyd lassen sich mit befriedigender Genauigkeit bestimmen.

[1] Ž. prikl. Chim. **31**, 298—305 (1958) [Russisch]. Fabr. f. Dentalbedarf Charkov (UdSSR). H. WUNDERLICH

Der Nachweis von o- und p-Phenolsulfosäure, die in den *sulfonierten Phenol-Formaldehyd-Kondensationsprodukten (synthetischen Gerbstoffen)* vorkommen, läßt sich nach E. MÜCK, D. KOKEŠ und F. LANGMAIER[1] zufriedenstellend papierchromatographisch erbringen. Man chromatographiert absteigend bei 18—22° C auf Whatman-Papier Nr. 3, das in Ziehrichtung zu Streifen geschnitten ist. Auf den Startpunkt trägt man 50—600 µg aus einer 1%igen alkoholischen Lösung der Ammoniumsalze der Phenolsulfosalze auf. Zur Bestimmung werden aus der 15%igen Lösung des Kondensats mit gleichbleibenden Volumina gesättigter Ammoniumsulfatlösung die höher kondensierten Produkte, die die Trennung stören, ausgesalzen. Von der verbleibenden Lösung bringt man 60—80 µl auf den Start wie bei der Vergleichsprobe. Als Laufmittel eignen sich die Systeme Isopropanol-Ammoniak (2:1) (S_1) und Isoamylalkohol-Äthanol-Ammoniak (5:3:2,5) (S_2). Nach 4—5 Std ist eine Laufstrecke von 20 cm zurückgelegt. Zum Sichtbarmachen der Flecken eignet sich am besten das Erhitzen der Chromatogramme auf 180° C im Trockenschrank. Die Identifizierung kann auf Grund der Unterschiede im Verlauf der Absorptionskurven im UV-Bereich 210—320 mµ erfolgen. Man eluiert hierzu die Flecken mit Äthanol. Die Papiere müssen vorher absteigend mit Äthanol zur Beseitigung störender Verunreinigungen eluiert werden, o-Phenolsulfosäure zeigt bei S_1 den R_f-Wert 0,77, bei S_2 0,47, während das p-Isomere die Werte 0,51 (S_1) bzw. 0,19 (S_2) besitzt.

[1] Chem. Listy **52**, 746—748 (1958) [Tschechisch]. Lederforsch.-Inst. Otrokovice (ČSR). H. FREYTAG

4. Analyse von biologischem Material

Über eine spektralphotometrische Bestimmung von Zink in biologischem Material berichten J. A. STEWART und J. C. BARTLET[1]. Nach eingehenden Untersuchungen der Farbreaktionen von Resorcin und dessen Derivaten mit Zink, fanden Verff. in *4-Chlorresorcin* ein empfindliches Reagens zur Bestimmung von 0,1—5 ppm Zink. Nach dem Veraschen des biologischen Materials wird Zink mit Na-Diäthyldithiocarbaminat in Chloroform extrahiert und aus der Chloroformphase durch Extraktion mit 0,16 m Salzsäure von störenden Metallen abgetrennt. — *Ausführung.* Nach Zersetzung des organischen Materials mit Salpeter-, Schwefel- und Perchlorsäure, wird ein aliquoter Teil mit nicht mehr als 60 µg Zink, mit einigen Tropfen konz. Schwefelsäure und 5—10 ml Wasser versetzt. Die Lösung wird aufgekocht und nach dem Abkühlen mit 5—10 ml Wasser verdünnt. Die Lösung wird gegen Phenolphthalein bis zur rosa Färbung mit Ammoniaklösung (1+1) neutralisiert und auf 25 ml aufgefüllt. Zur Lösung werden 10 ml 5%ige Citratpufferlösung vom p_H-Wert 8,5 (siehe unten) und 2 ml 2%ige wäßrige Na-Diäthyldithiocarbaminatlösung zugesetzt und das Volumen auf etwa 50 ml gebracht Die wäßrige Lösung wird 3mal mit je 5 ml Chloroform jeweils 1 min lang ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformauszüge werden mit 3 ml Wasser gewaschen und mit genau 3 ml 0,16 m Salzsäure versetzt. Nachdem 1 min geschüttelt worden ist, wird die Chloroformphase abgetrennt und die Säurephase mit 10 ml Chloroform gewaschen. 1—2 ml des Säureextraktes werden mit 1 ml Ammoniaklösung (1 + 1), sowie mit 1 m

6%iger wäßriger 4-Chlorresorcinlösung versetzt und mit Wasser auf 5 ml aufgefüllt. Nach 2 Std wird die Absorption bei 640 mμ gegen einen Blindansatz gemessen und der Zinkgehalt einer unter gleichen Bedingungen aufgestellten Eichkurve entnommen. Die Bestimmung von Zink gelingt neben größeren Mengen anderer Metalle, mit Ausnahme von Cadmium, das aber nicht in störenden Konzentrationen im biologischen Material vorliegt. Beleganalysen zeigen die Brauchbarkeit des beschriebenen Verfahrens. — *Citratpufferlösung.* 25 g Citronensäure (Monohydrat) werden in 300 ml Wasser gelöst. Der p_H-Wert wird mit Ammoniak (1+1) auf 8,5 ± 0,1 eingestellt und das Volumen mit Wasser auf 500 ml aufgefüllt. Enthält der Puffer Zink, so kann er durch Na-diäthyldithiocarbamatextraktion gereinigt werden.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 404—409 (1958). Dep. Nat. Health Welfare, Ottawa, (Canada). H. Zimmer

Zur quantitativen Bestimmung der Sulfhydrylgruppen in Geweben modifiziert T. Patzek[1] die Methode von P. Flesch und E. Kun[2]. Einesteils beschreibt er am Beispiel des Glutathions die Veränderungen der Methode, anderenteils macht er auf viele Fehlerquellen aufmerksam, die unter anderem in der Qualität der verwendeten Chemikalien liegen. Die Änderungen der Methode betreffen Anpassungen an vorhandene Apparate und Verwendung von Teilen verschiedener anderer Geräte. Auch über die Empfindlichkeit des Verfahrens wird berichtet. Das bestmögliche Ergebnis wird bei Einsatz von 10 mg frischen Gewebes erzielt. Aber trotz aller Änderungsversuche wird die Methode von Flesch und Kun als unzuverlässig bezeichnet.

[1] Bull. Acad. pol. Sci., Sér. biol., **5**, 371—374 (1957). Inst. Onkologie, Gliwice (Gleiwitz). — [2] Proc. Soc. exp. Biol. Med. **74**, 249 (1950); vgl. diese Z. **134**, 79 (1951/52). B. Rossmann

Über eine elektrometrische Methode für die Bestimmung von Chlorid im Serum und anderen biologischen Flüssigkeiten berichten D. Seligson, G. J. McCormick und K. Sleeman[1]. Die von B. Cunningham, P. L. Kirk und S. C. Brook[2] beschriebene Bestimmungsmethode von 0—1 μMol Chlorid wird durch Verwendung eines speziellen elektrischen Rührers und einer Mikrobürette nach P. F. Scholander[3] modifiziert. Die Methode beruht darauf daß Chlorid mit Silbernitrat titriert und der Endpunkt mittels eines empfindlichen Galvanometers angezeigt wird, das den durch das „dissimilare" Elektrodenpaar (Silberkugel und amalgamiertes Silberblech) gelieferten Strom mißt, wenn der erste Silberüberschuß auftritt. Durch die Abänderung wird die Bestimmungsdauer (frühere Zutropfgeschwindigkeit alle 30 sec, jetzt 2—3 sec) herabgesetzt. Außerdem wird durch Vergleichsmessung einer 0,1 n Salzsäure mit Serum festgestellt, daß Protein die Bestimmung nicht stört, so daß *Serum, Rückenmarksflüssigkeit* und *Urin* direkt untersucht werden können. *Gewebe* können unter Zugabe von 20 Teilen 5%iger Natriumcarbonatlösung verascht (600° C), die Asche in Schwefelsäure gelöst und der Chloridgehalt dann ebenfalls bestimmt werden. Die Fehlergrenze liegt unter 0,5%. Eine Bestimmung dauert 1—2 min. Die Apparatur und die Durchführung des Verfahrens sind sehr genau beschrieben.

[1] Clin. Chemistry **4**, 159—169 (1958). Univ. Philadelphia, Pa. und Army Med. Center, Washington, D.C. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **139**, 11 (1941). — [3] Science **95**, 177 (1942); vgl. diese Z. **129**, 75 (1949). Ursula Baumann

Die spektrophotometrische Bestimmung von Chloriden in Schweiß und Serum durch Bildung eines Farbkomplexes mit s-Diphenylcarbazon und Quecksilber(II)-nitrat beschreiben J. L. Gerlach und R. G. Frazier[1]. — *Reinigung von s-Diphenylcarbazon (DPC).* Man löst 5 g käufliches DPC (Fp 154—156° C, DP-carbazidhaltig!) in 75 ml warmem Äthanol und gibt diese Lösung zu einer Lösung von 25 g Natrium-

carbonat in 400 ml Wasser. Nach dem Abkühlen entfernt man das DP-carbazid durch Ausschütteln des Gemisches mit 100 ml, 2 mal 50 ml und 3 mal 35 ml Äther und säuert die alkoholisch-wäßrige Phase mit 3 n Salpetersäure oder mit Eisessig an. Das hierbei ausfallende reine DPC trennt man ab und trocknet es. Das orange gefärbte, kristalline Material muß Fp 118—120° C zeigen. Es ist, wenn es vor Licht und Feuchtigkeit geschützt wird, mindestens 1 Jahr lang haltbar. — *Arbeitsweise für Schweiß.* Man saugt diesen mit Filtrierpapier auf, bringt das Papier in ein kurzes Filterrohr und spült es 8 mal mit kleinen Mengen heißen Wassers in einen 25 ml-Meßkolben. Nach dem Abkühlen füllt man mit Wasser bis zur Marke auf, entnimmt einen aliquoten, 10—60 μg Chlorid entsprechenden Anteil (1—15 ml), bringt diesen in einen 25 ml-Meßkolben und verdünnt mit Wasser auf 15 ml. Nun säuert man durch tropfenweisen Zusatz von 0,05 n Salpetersäure auf p_H 3,3 bis 3,5 an, fügt 1,0 ml alkoholische 0,002 m DPC-Lösung sowie 1,0 ml 0,001 m Quecksilber(II)-nitratlösung zu, verdünnt mit Wasser, gibt tropfenweise 0,05 n Salpetersäure bis p_H 3,2 zu, füllt mit Wasser bis zur Marke auf und mißt bei 520 mμ gegen einen Blindansatz aus $6{,}0 \cdot 10^{-5}$ m DPC-Lösung von p_H 3,2. — *Arbeitsweise für Serum.* Man pipettiert in ein 12 ml-Zentrifugenglas 0,1 ml Serum, 7,9 ml Wasser, 1,0 ml 0,3 n Bariumhydroxydlösung und 1,0 ml 5%ige Zinksulfatlösung, verschließt das Glas und mischt. Nach 3—5 min langem Zentrifugieren entnimmt man 1,0 ml der überstehenden blanken Flüssigkeit, fügt 1,0 ml 0,003 m alkoholische DPC-Lösung zu und verfährt weiter wie beschrieben. Die Messung nimmt man gegen einen Blindansatz aus $1 \cdot 10^{-4}$ m DPC-Lösung von p_H 3,2 vor. Die gefundenen Extinktionen vergleicht man mit einer Eichkurve, die durch analoge Behandlung wäßriger Natriumchloridlösungen mit 0—240 μg NaCl/100 ml erhalten wird. — Die Genauigkeit der Methode beträgt 1,6 μg Cl/100 ml, die Fehler liegen unter 2%. (Diagramme und Tabellen mit Meßwerten im Original.)

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1142—1146 (1958). Univ. Iowa City, Io. (USA).

K. Söllner

Über eine Mikromethode zur Bestimmung von Aceton und Acetylaceton in biologischen Flüssigkeiten berichtet G. L. S. Pawan[1]. Acetylaceton wird durch Behandlung mit Anilin zu Aceton umgesetzt. Aceton wird mit Salicylaldehyd und Lauge versetzt, wobei sich Dihydroxybenzalaceton bildet, dessen Rotfärbung bei 520 mμ photometriert wird. Das Beersche Gesetz ist bis zu 25 mg Aceton/100 ml biologischer Flüssigkeit erfüllt. Die Anwesenheit von Proteinen stört nicht. — *Arbeitsweise.* Die Bestimmung wird in einem 50 ml-Erlenmeyer-Kolben durchgeführt, der mit einem Gummistopfen verschlossen ist. Am Gummistopfen ist eine Papierklammer, die ein Röllchen von Anilinpapier hält, befestigt. Zur Herstellung dieses Röllchens wird ein Papierbogen in eine 50%ige Lösung von Anilinhydrochlorid getaucht und unterhalb 40° C getrocknet. Dann schneidet man Streifen von $2{,}5 \times 3{,}7$ cm heraus und rollt diese zusammen. Zur *Bestimmung von Aceton* werden 4 ml 40%ige Natronlauge und 1,0 ml Salicylaldehydreagens (20%ige Lösung von Salicylaldehyd in 95%igem Äthanol) in den Kolben pipettiert und unter Schütteln vermischt, wobei Kristallisation eintritt. Dann bringt man 0,2 ml der biologischen Flüssigkeit auf das Papierröllchen, das mit Anilinhydrochlorid imprägniert ist, auf, verschließt den Kolben und erwärmt 20 min auf 50—55° C. Nach 30 min Stehen bei Zimmertemperatur wird das Röllchen entfernt, 5,0 ml Wasser hinzugefügt und geschüttelt, bis die Kristalle vollkommen gelöst sind. Hierauf mißt man die Extinktion der Lösung bei 520 mμ. In gleicher Weise wird der Blindwert bestimmt sowie eine Eichkurve mit Aceton angefertigt.

[1] Biochemic. J. **68**, 33P—34P (1958). Middlesex Hosp. Med. School, London (England).

G. Kainz

Eine Methode zur Rundfilterchromatographie langkettiger Fettsäuren bei der Analyse bakterieller Lipopolysaccharide teilen A. Nowotny, O. Lüderitz und O. Westphal[1] mit. Es handelt sich dabei um eine Modifikation des Verfahrens von H. P. Kaufmann und W. H. Nitsch[2], das auf Rundfilter übertragen wird, und bei dem Verf. für die stationäre Phase die Fraktion käuflichen Petroleums benutzen, die bei wiederholter Destillation zwischen 200° und 210° C übergeht. Die Trennung wird auf diese Art schärfer und die R_f-Werte sind gut reproduzierbar. Als mobile Phase dient 85%ige Essigsäure, die bei Raumtemperatur mit der Kohlenwasserstofffraktion gesättigt ist. — *Ausführung.* Ein 20 cm-Rundfilter Schl. & Sch. 2043 b wird 1 min in die obige Fraktion eingetaucht, zwischen Filtrierpapier mit einer Rolle ausgepreßt und 1 Std hängend bei Raumtemperatur getrocknet. Man trägt 0,002 ml der in Benzol gelösten Substanzen (6—32 μg Fettsäure entsprechend) auf und läßt eine wenigstens 7—8 mm breite Zunge in die 85%ige Essigsäure tauchen (Laufzeit 16 Std). Das Sichtbarmachen der Fettsäuren erfolgt mit Kupferacetat-Cyanoferrat(II)[2], das der ungesättigten noch zusätzlich in OsO_4-Atmosphäre nach M. H. Hack[3]. Die sauren Hydrolysate der Lipopolysaccharide von 11 verschiedenen Species gramnegativer Bakterien (Coli, Salmonellen) enthalten die gleichen langkettigen Fettsäuren: 12, 14, 16, 18, (22) und 24 C. Die Befunde sind mit 2 Abbildungen belegt.

[1] Biochem. Z. **330**, 47—52 (1958). Dr. Wander-Forsch.inst., Freiburg-Zähringen (Baden). — [2] Fette u. Seifen **56**, 154 (1954); vgl. diese Z. **146**, 115 (1955). — [3] Biochemic. J. **54**, 602 (1953); vgl. diese Z. **146**, 397 (1955). E. Müller, Würzburg

Die Bestimmung der Phospholipide und des Gesamtphosphors im Serum mit Chlorsäure beschreiben J. F. Goodwin, R. Thibert, D. McCann und A. J. Boyle[1]. Die bei der Jodbestimmung im Serum benutzte Aufschlußmethode mit Chlorsäure wird hier mit der photometrischen Bestimmung des Lipoid- und Gesamtphsophors durch Reduktion der Phosphormolybdänsäure mit Hydrazinsulfat[2] verbunden. Der Vorteil der Methode liegt in der Robustheit des Aufschlusses, wodurch viele Messungen (hier bis zu 15) nebeneinander möglich sind. — *Ausführung.* Zur Darstellung der *Chlorsäure* wird 500 g Kaliumchlorat in 900 ml Wasser in der Wärme gelöst. Nach vorsichtiger Zugabe von 375 ml 72%iger Perchlorsäure (Rühren) und 12—24 Std Abkühlen wird vom gebildeten Kaliumperchlorat abfiltriert (Whatman 41 H). Die Chlorsäure ist etwa 28%ig. — Zur *Bestimmung der Phospholipide* wird 1 ml Serum mit 18 ml Alkohol-Äther (3:1) bei 70° C 30 sec gekocht, nach Abkühlen auf 25 ml aufgefüllt und filtriert. 5 ml des Filtrates werden eingedampft. Dann werden 5 ml der Chlorsäure und 2 Tr. 10%ige Natriumchloridlösung zugesetzt und bei mittlerer Temperatur eingedampft, bis weiße Dämpfe von Perchlorsäure entstehen. Man erhitzt weiter bis zur Trockne, nimmt in 10 ml Wasser auf, neutralisiert mit 2 n Natronlauge gegen Phenolphthalein und setzt 5 ml Molybdatlösung (2,5 g Natriummolybdat in 100 ml 10 n Schwefelsäure) zu. Die Lösung wird in einen Meßkolben gebracht, 2 ml 0,15%ige Hydrazinsulfatlösung werden zugesetzt, auf 50 ml aufgefüllt und verschlossen 15 min im Wasserbad erwärmt. Die Extinktion wird bei 655 oder 830 mμ bestimmt. Die entstandene Blaufärbung ist mindestens 12 Std stabil. Zur Bestimmung des Gesamtphosphors werden 0,1 ml Serum mit 7 ml Chlorsäure direkt ohne vorherige Extraktion aufgeschlossen und nach der oben beschriebenen Methode bestimmt.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1097—1099 (1958). Wayne State Univ., Detroit, Mich. (USA). — [2] Boltz, D. F., u. M. G. Mellon: Analyt. Chemistry **19**, 873 (1947).

Ursula Baumann

Über die papierelektrophoretische Trennung von Phosphatiden berichten H. Zipper und M. D. Glantz[1]. Sie benutzen „nichtwäßrige" Systeme, die nur wenig Wasser und geringe Salzkonzentration aufweisen, wie sie von M. H. Paul und E. L. Durrum[2] beschrieben worden sind. Es gelangen 9 verschiedene Systeme zur Anwendung, die 3 Grundtypen aufweisen: 95%iger Alkohol, Methanol und Pyridin-Eisessig. Verff. untersuchen *„Lecithin"*, *Dimyristoyllecithin*, *Dioleoyllecithin*, *Phosphatidyläthanolamin*, *Phosphatidylserin*, *Diphosphainositid*, *Glykolstearyllecithin* und *Kephalingemisch*. Die Phosphatide werden in einem Gemisch von Laufsystem und Chloroform (1:1) aufgetragen. Die Ergebnisse sind tabellarisch zusammengestellt.

[1] J. biol. Chemistry **230**, 621—624 (1958). — [2] J. Amer. chem. Soc. **74**, 4721 (1952).
E. Müller, Würzburg

Die photometrische Bestimmung von Phenylbrenztraubensäure (PBTS) im Urin mit Ammoniumeisen(III)-alaun nach M. Polonovski, P. Desgrez und F. Delbarre[1] wird von H. Zahn[2] überprüft. Verf. bestätigt die Beobachtung dieser Autoren, daß PBTS im Urin nicht vollständig wiedergefunden wird und ein empirischer Faktor durch Versuche mit zugesetzter PBTS ermittelt werden muß. Der Faktor liegt in reinem Wasser bei 2,3, für Urin von Phenylketonurikern erhält man Werte um 2,7. — Nach der Methode von K. Kropp und K. Lang[3] mit Eisen(III)-citrat findet Verf. noch weniger PBTS wieder, obwohl sie nach diesem Verfahren nahezu vollständig wiedergefunden werden sollte. — Verf. gibt auf Basis der Arbeiten von Polonovski u. Mitarb.[1], O. Schrappe[4] und W. Keup[5] eine *Arbeitsvorschrift* an. 1 ml Urin versetzt man mit 5 ml Reagenslösung (140 ml einer Lösung von 15 g $Fe\,NH_4\,(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$ in 200 ml Wasser und 100 ml 98—100%iger Ameisensäure + 360 ml Wasser), mischt und photometriert sofort in einer 0,5 cm-Küvette bei 620 mμ gegen Urin, der mit 5 Teilen 10%iger Ameisensäure versetzt worden ist. Das Maximum der Extinktion ist nach etwa 1 min erreicht. — Die Bestimmung des Faktors ist im Original beschrieben.

[1] Bull. Soc. chim. biol. **29**, 1049 (1947). — [2] Ärztl. Laborat. **4**, 146—151 (1958). Univ.-Kinderklinik Würzburg. — [3] Klin. Wschr. **33**, 482 (1955). — [4] Nervenarzt **23**, 175 (1952). — [5] Biochem. Z. **326**, 14 (1954); vgl. diese Z. **148**, 59 (1955/56).
Margot Zimmermann

Aminosäuren. *Über die Bestimmung der freien Aminosäuren des Liquor Cerebrospinalis und ihre Bedeutung für die Klinik* berichten H. G. Knauff, W. Mialkowsky und H. Zickgraf[1]. In allen untersuchten Flüssigkeiten wurden die gleichen Aminosäuren nachgewiesen, unabhängig, ob es sich um normale oder pathologische Fälle handelte. Das bedeutet, daß aus der Aminosäurezusammensetzung keine diagnostischen Schlüsse gezogen werden können. Die Untersuchung der enteiweißten und entsalzten Probe erfolgte durch Hochspannungselektrophorese und nachfolgende Papierchromatographie[2]. Nachgewiesen wurden 25 ninhydrinpositive Substanzen, von denen 22 identifiziert wurden und zwar: *Alanin*, *α- und γ-Amino-n-buttersäure*, *Arginin*, *Asparaginsäure*, *Cystin-Cystein*, *Glutamin*, *Glutaminsäure*, *Glykokoll*, *Hystidin*, *Leucin-Isoleucin*, *Lysin*, *Methionin*, *Ornithin*, *Phenylalanin*, *Prvlin*, *Serin*, *Taurin*, *Threonin*, *Tryptophan*, *Tyrosin und Valin*.

[1] Klin. Wschr. **1958**, 739—740. Univ. München. — [2] Knauff, H. G., W. Mialkowsky und H. Zickgraf: Z. klin. Med., **155**, 483 (1959). Ursula Baumann

Über die Bedeutung der Austauscherteilchengröße bei der Herstellung von Säulen zur Ionenaustauschchromatographie von Aminosäuren berichtet P. B. Hamilton[1]. Die bekannte Tatsache, daß kleine Korngröße die Trennschärfe vergrößert, wird bestätigt. Das Aussieben wird durch Ausschwemmen ersetzt, das exaktere Werte

liefert. Die Korngröße wird hier mikroskopisch in μ gemessen[2]. Als optimale Durchmesser haben sich 20—40 μ bei sulfonierten Polystyrolen mit 8% Vernetzung in H^+- oder Na^+-Form erwiesen. Ein nachfolgendes Auswaschen mit Salzsäure und Natronlauge ist wesentlich. — *Ausführung.* In einem konischen Scheidetrichter von 2 l schwemmt man eine Aufschlämmung von 175 ml Harz/l Wasser zuerst mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 50 ml/min mit Wasser und verwirft die mit übergehenden zu kleinen Partikel. Die bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 250 ml/min mitgerissenen Partikel (20—40 μ) sammelt man auf einer Fritte. Die zurückbleibenden größeren Körner werden nicht benutzt. Bei einem 6 l-Scheidetrichter lauten die entsprechenden Durchflußzeiten 120 ml/min und 480 ml/min. Für den 2 l-Trichter braucht man etwa 40 l Wasser, für den 6 l-Trichter etwa 60 l. Man wäscht auf der Fritte mit 6 n Salzsäure bis das Filtrat klar ist (etwa 9 l/500 ml Harz) und dann mit 9 l 2 n Natronlauge, die zur Entfernung von etwa in Salzsäure nicht löslichen Chloriden 0,1% Na_2-ÄDTA-Lösung enthält. Den Austauscher suspendiert man in 10 l 0,2 n Natronlauge, dekantiert nach 2 Std, und stellt mit einer Aufschwemmung in 0,2 n Natronlauge (1:2) eine Säule von $0{,}9 \times 100$ cm her, die einen Durchflußwärmemantel trägt. Die Arbeitstemperatur beträgt 50° C, die Durchflußgeschwindigkeit 25 ml/Std. Weiter verfährt man nach S. Moore und W. H. Stein[3].

[1] Analyt. Chemistry **30**, 914—919 (1958). Du Pont Inst. of the Nemours Found., Wilmington, Del. (USA). — [2] Martin, G., C. E. Blythe u. H. Tongue: Trans. ceram. Soc. **23**, 61 (1924). — [3] J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948); **192**, 663 (1951); **211**, 893 (1954); vgl. diese Z. **136**, 371 (1952); **151**, 73 (1956).

E. Müller, Würzburg

Von D. H. Simmonds[1] wird eine Apparatur beschrieben, die zur *automatischen Bestimmung der durch Ionenaustauscher getrennten Aminosäuren* dient. Mit Hilfe einer genauen Beschreibung, von Zeichnungen und Abbildungen wird die umfangreiche durch Kleinmotoren angetriebene und durch Relais gesteuerte Apparatur dargestellt. Vom ersten Aufgießen der zu untersuchenden Lösung an bis zur spektrophotometrischen Registrierung der Lichtdurchlässigkeit verlaufen alle Analysenschritte automatisch. Dank einer aufgeführten Tabelle sind dann nur noch die Absorption und die einzelnen Gehalte an Aminosäuren zu berechnen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1043—1049 (1958). Wool Textile Res. Labs., Melbourne (Australien). B. Rossmann

D. H. Spackman, W. H. Stein und S. Moore[1] haben eine *automatisch registrierende Apparatur zur quantitativen chromatographischen Bestimmung von Aminosäuren* entwickelt. Eine von gelöster Luft befreite Pufferlösung wird mit konstanter Geschwindigkeit durch eine Säule gepumpt, die mit sulfoniertem Polystyrolharz gefüllt ist. In das Eluat wird mit Hilfe einer zweiten Pumpe aus einer Capillare Ninhydrinreagens gespritzt, so daß sich dann beim Durchströmen einer in siedendes Wasser tauchenden Spirale die mit Aminosäuren übliche Farbe ausbilden kann. Die resultierende Extinktion wird kontinuierlich bei 570 und 440 mμ in einer zylindrischen Glaszelle von 2 mm Schichtdicke gemessen. Die registrierten Banden können bei einer Belastung von 0,1—0,3 μMol/Aminosäure mit einer Genauigkeit von 100 $\pm$ 3% quantitativ bestimmt werden. Hydrolysate von Proteinen oder Peptiden lassen sich in weniger als 24 Std analysieren. Die Untersuchung von mehr komplexen Mischungen, wie z. B. von *Blutplasma, Urin oder Säugetiergeweben*, benötigt etwa 2 Tage. — Aufbau und Wirkungsweise der Apparatur sowie die Arbeitsweise sind ausführlich beschrieben.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1190—1206 (1958). Rockefeller Inst. Med. Res. New York, N. Y. (USA). D. Jentzsch

S. Moore, D. H. Spackman und W. H. Stein[1] beschreiben verschiedene Arbeitsweisen zum *Chromatographieren von Aminosäuren an sulfoniertem Polystyrolharz*. Die vollständige Analyse eines Proteinhydrolysates läßt sich mit Hilfe eines Fraktionssammlers (diskontinuierliche Arbeitsweise) in etwa 48 Std ausführen; mit Hilfe einer automatisch registrierenden Apparatur (kontinuierliche Arbeitsweise) werden nur 24 Std benötigt. Die Verfahren eignen sich ebenfalls für die Bestimmung von Aminosäuren und verwandten Verbindungen *in Blutplasma, Urin und tierischen Geweben. — Ausführung.* Die neutralen und sauren Aminosäuren werden in einer 150 cm langen Säule (Durchmesser 0,9 cm), die basischen in einer 15 cm langen Säule getrennt. Im ersten Fall werden 2 Pufferlösungen benötigt. In jedem Fall wird Amberlite IR-120 in verschiedenen Körnungen bei einer Arbeitstemperatur von 50° C verwendet. Die Auswahl der Korngröße richtet sich nach der Arbeitsweise. So werden beim kontinuierlichen Arbeiten mit automatischer Registrierung wegen der erwünschten höheren Fließgeschwindigkeit kleinere Korngrößen (25—30 μ bei 15 und 50 cm langen Säulen; 40 $\pm$ 7 μ bei 150 cm langen Säulen) bevorzugt als bei Verwendung eines Fraktionssammlers (40 $\pm$ 7 μ bei 15 und 50 cm langen Säulen; 56 $\pm$ 9 μ bei 150 cm langen Säulen). Die einzelnen Korngrößen werden nach der Methode von Hamilton[2] durch Abschwemmen mit Wasser aus den 3 handelsüblichen Typen des Amberlite IR-120 (CG-120, Rohm & Haas Co., zu beziehen durch: The Fisher Scientific Co., 635 Greenwich St., New York 14) gewonnen: Typ I 100—200 mesh, Typ II feiner als 200 mesh (Katalog-Nr. A-530) und Typ III 400—600 mesh (Katalog-Nr. A-932). Als Pufferlösungen stehen 5 Natriumcitratlösungen (0,20, 0,35 bzw. 0,38 n) verschiedener p_H-Werte (3,25 $\pm$ 0,01, 4,25 $\pm$ 0,02, 4,26 $\pm$ 0,02, 5,28 $\pm$ 0,02, 6,50 $\pm$ 0,05) zur Verfügung, die je nach Arbeitsweise eingesetzt werden. Zu 40 l einer Pufferlösung sind unter Umständen noch geringe, weitere Zusätze (wie z. B. Phenol) notwendig. Als Beleg sind 3 Trennungen von 11, 7 bzw. 5 Aminosäuren mit den einzelnen Arbeitsbeschreibungen angegeben.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1185—1190 (1958). — [2] Hamilton, P. B.: Analyt. Chemistry **30**, 914 (1958); vgl. diese Z. **167**, 223 (1959). D. Jentzsch

Zur Papierchromatographie von Aminosäuren benutzen J. Heilmann, J. Barrollier und E. Watzke[1] die Methode des mehrfachen Laufes, die erstmalig von A. Jeanes, C. S. Wise und R. J. Dimler[2] zur Auftrennung von Kohlenhydraten angewandt worden ist. Bei $R_f < 0{,}5$ tritt eine wesentliche Verbesserung ein. Ein 3maliger Lauf erweist sich als am günstigsten. Die Chromatogramme sollen bald nach dem Trocknen ausgewertet werden, um Aminosäurenverluste zu vermeiden. Als Laufmittel wird Propanol(2)-Ameisensäure-Wasser (75:13:12) mit gutem Erfolg verwendet. Als Reagens wird eine Mischung benutzt, die sich aus 100 mg Cadmiumacetat, 10 ml Wasser, 5 ml Eisessig, 100 ml Aceton und 1 g Ninhydrin zusammensetzt. Das Reagens ist im Kühlschrank gut haltbar. Die Farbentwicklung geschieht durch Durchziehen des Streifens durch die Reagensmischung und Einbringen nach $^1/_2$ Std in einen verschlossenen Behälter, auf dessen Boden eine Schale mit konz. Schwefelsäure steht. Dadurch werden ammoniakalische Schäden verhütet. Nach 24 Std ist die Farbe voll entwickelt; sie hält sich weitere 24 Std. Als Chromatographierpapier erwies sich Schl. & Sch. Nr. 2045a M oder agl als besonders geeignet. Macht man die Streifen mit α-Bromnaphthalin-Paraffinöl (n_D^{20} 1,54) durchsichtig, so ist eine Direktphotometrie möglich. Sonst kann man die ausgeschnittenen Zonen des Chromatogramms mit schwermetallfreiem Methanol eluieren und bei 500 mμ colorimetrieren.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **309**, 219—220 (1957). Schering A.G., Berlin. — [2] Analyt. Chemistry **23**, 415 (1951); vgl. diese Z. **136**, 142 (1952). B. Rossmann

Um ein Eiweißhydrolysat papierchromatographisch in die einzelnen Aminosäuren aufzutrennen entwickeln J. Chartier, F. W. van Klaveren und G. Vaillancourt[1] eine Horizontal-Rundfiltermethode. Zuerst wird in einem Holzkasten mit einem Papierstreifen chromatographiert, der mit einem Schlitz versehen ist. Beide Abschnitte werden mit der Aminosäuremischung versehen; man läßt 22 bis 30 Std das Lösungsmittel (n-Butanol-Methyläthylketon-Wasser-17 n Ammoniak [5:3:1:1]) laufen. Hierbei erhält man eine Auftrennung in 6 Gruppen. Nach dem Trocknen entwickelt man den einen Abschnitt mit Ninhydrin und schneidet an dem anderen die einzelnen Gruppen für eine Capillarelution aus. Das capillar herausgelöste Eluat tropft jeweils auf eine horizontale in Segmente unterteilte Filterscheibe, und zwar bringt man die Gruppen 1, 3 und 6 auf verschiedene Segmente der einen Scheibe und die Gruppen 2 und 4 entsprechend auf eine zweite Scheibe. Wenn der Fleck 4 mm Durchmesser erreicht hat, wird getrocknet und dann erneut eluiert. Dies muß 15—20mal wiederholt werden. Zur Auftrennung verwendet man für die Gruppen 1 (Cystein, Glutaminsäure, Asparaginsäure), 3 (Histidin, Alanin, Serin) und 6 (Isoleucin/Leucin, Phenylalanin) tert.-Butanol-Ameisensäure-Wasser (75:0,8:24,2) und für die Gruppen 2 (Lysin, Arginin, Glycin, Hydroxyprolin) und 4 (Tyrosin, Valin, Methionin, Prolin) Lutidin-Wasser (2:1). Gruppe 5 besteht nur aus Threonin. Die Entwicklung der einzelnen Aminosäuren wird mit Ninhydrin vorgenommen, nur Prolin, Hydroxyprolin und Tryptophan müssen gesondert nachgewiesen werden.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 317–326 (1958). Fish. Res. Board, Grande-Rivière, P. Q. (Canada). B. Rossmann

Die chromatographische Bestimmung der qualitativen Zusammensetzung der Aminosäuren im Blutserum beschreiben Z. S. Čulkova und I. I. Gumina[1]. Die Fällung der Proteine ohne Verlust an Aminosäuren erfolgt am besten mit verdünnter Essigsäure: gleiche Volumina Serum und 0,04 n Essigsäure werden vermischt, im siedenden Wasserbad 3—5 min erhitzt, gekühlt und zentrifugiert (30 min bei 4000 U/min). Die farblose Flüssigkeit wird abgegossen und eingedampft. Das chromatographische Papier wird zunächst durch Eintauchen in eine 1%ige ÄDTA-Lösung, Abspülen mit dest. Wasser und Trocknen von Metallspuren befreit. Das proteinfreie essigsaure Zentrifugat wird nach dem Eindampfen auf das Papier 3—4mal (nach Trocknen) aufgetragen. In derselben Weise werden „Zeugen"-Gemische von Aminosäuren (insgesamt 17 Aminosäuren) auf das Papier gebracht. Als Lösungsmittel dient das Gemisch n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5). Die aufsteigende Trennung wird 3mal zu je 6 Std durchgeführt. Die Chromatogramme werden getrocknet, danach mit einer 0,2%igen Ninhydrinlösung in Aceton und 10—15 min Trocknen entwickelt. Nach einem Tage sind die Flecke deutlicher. Einige Aminosäurepaare geben gemeinsame Flecke. Durch besondere Versuche wird festgestellt, daß bei dem beschriebenen Verfahren nur etwa 6% der Aminosäuren verloren gehen, das ist weniger als bei anderen Verfahren. Die quantitative Bestimmung der Aminosäuren muß noch untersucht werden.

[1] Laborat. Delo **4**, H. 3, 22—24 (1958) [Russisch]. Gesundheitsminist. der „RSFSR", Moskau. A. v. Wilpert

Die papierchromatographischen R_f-Werte der Aminosäuren D,L-Lysin, D,L-Alanin, L-Tyrosin, L-Glutaminsäure und D,L-Threonin nehmen, wie Ch. R. Willms und W. M. Harding[1] bei aufsteigender Entwicklung mit wassergesättigtem Collidin bzw. mit wassergesättigter Isobuttersäure auf Whatman-Papier Nr. 1 feststellen, unabhängig von der Arbeitstemperatur und der Lage des isoelektrischen Punktes mit abnehmender Papierbreite bzw. mit abnehmendem Abstand der Flecken von

der vertikalen Papierkante zu. Bei großen Abständen bzw. Papierbreiten (≈ 100 mm) wird ein unterer Grenzwert erreicht.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 411—414 (1958). Southwest Texas State Teachers Coll., San Marcos, Tex. (USA). H. Hartkamp

Zur quantitativen Bestimmung der Aminosäuren auf den Chromatogrammen empfehlen G. N. Zaiceva und N. P. Tjuleneva[1] die Entwicklung der Flecken mit nicht-reduziertem Ninhydrin in Gegenwart von Kupfersalz nach K. V. Giri, A. N. Radhakrishnan und C. S. Vaidyanathan[2] sowie F. Bode[3], wobei die Methode insofern abgeändert wird, als Ninhydrin in einer nur 1%igen Essigsäure gelöst wird (Bode[3] 5%) und die Extraktion nach Giri[2] mit der Bildung des Cu-Derivats kombiniert wird, wobei als Extrahens CH_3OH (wie Bode[3]) für die Flecken verwendet wird (70%iger Äthylalkohol nach Giri[2] gibt störende Trübung). — Das Papier wird zunächst zur Entfernung von Metallspuren mit einer 0,15%igen 8-Hydroxychinolinlösung im Gemisch n-Butanol-Essigsäure-Wasser (40:5:14) schmutzig gelb gefärbt und dann 2—3 Tage mit n-Butanol-Essigsäure-Wasser (40:10:50) gewaschen. Von den verschiedenen Papierformen sind die Streifenformen nach W. Matthias[4] zu empfehlen. Als Laufmittel dient das Gemisch n-Butanol-Eisessig-Wasser (40:10:50). Für gewisse Trennungen (Asparaginsäure-Serin-Glykokoll oder Glutaminsäure-Threonin-Methionin) ist das Mischungsverhältnis 40:15:5 vorzuziehen[5]. — Die getrockneten Chromatogramme werden einige Sekunden in eine 0,5%ige Ninhydrinlösung (in 95% Aceton + 1% Essigsäure) getaucht und nach dem Abdampfen des Acetons (5 min) 30 min bei 65° C erwärmt. Dann werden die violetten Flecken ausgeschnitten, jeder Fleck wird mit 4 ml CH_3OH (enthaltend 0,2 ml gesättigte, wäßrige Cu-Nitratlösung in 500 ml) übergossen und $1^1/_2$—2 Std im Dunkeln extrahiert, wonach die Färbung bei 500 mμ in 5 mm-Küvetten gegen eine Blindprobe gemessen wird. — Zum Aufzeichnen der Eichkurven werden die entsprechenden Aminosäuren (20—25 mg) in 10 ml 10%igem wäßrigem Isopropylalkohol gelöst. Von den Lösungen werden 1—6 μl auf das Papier aufgetragen. Bei Verwendung des Gemisches 40:10:50 sind 12, bei 40:15:5 weitere 6 Aminosäuren gut getrennt worden. Nach der Größe der optischen Dichte (die 0,1 μMol Aminostickstoff entspricht) lassen sich die Aminosäuren in 3 Gruppen einteilen: 1. $E_{500\,m\mu} = 0{,}280$—$0{,}301$: *Aminobuttersäure, Serin, Arginin, Lysin, Alanin, Threonin*; 2. $E_{500} = 0{,}161$—$0{,}175$ *Asparaginsäure, Glutaminsäure, Methionin, Histidin, Valin, Tyrosin, Glycin, Leucin, Isoleucin;* 3. *Phenylalanin* (0,137), *Cystin* (0,126). Man kann daher bei Zeichnung der Eichkurve sich mit je einer Aminosäure aus jeder Gruppe begnügen, die dann für die ganze Gruppe gilt. Die besten Ergebnisse werden bei Anwendung einer 0,5—2 μg Amin-N entsprechenden Menge jeder Aminosäure erzielt. Das modifizierte, für Serienbestimmungen geeignete Verfahren gibt gut reproduzierbare Resultate; die Abweichungen bei Parallelproben betragen nicht mehr als $\pm$ 2%.

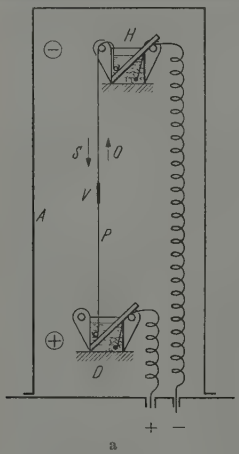
[1] Laborat. Delo **4**, H. 3, 24—30 (1958) [Russisch]. Biolog-bodenkundl. Fakultät Univ. Moskau. — [2] J. Indian Inst. Sc. **35**, 145 (1935); vgl. auch diese Z. **141**, 134 (1954). — [3] Biochem. Z. **326**, 433 (1955); vgl. diese Z. **149**, 319 (1956). — [4] Der Züchter **24**, 313 (1954); vgl. diese Z. **143**, 287 (1954); **150**, 209 (1956). — [5] Rao, N., u. T. Wadhwani: Current Sci. **24**, 313 (1954). A. v. Wilpert

Eine Serienmethode zur photometrischen Bestimmung von Aminosäuren auf Filtrierpapier mit Ninhydrin beschreibt E. Schwerdtfeger[1]. Der Einfluß vom p_H-Wert, Erhitzungsdauer und Wassergehalt der Reagentien auf die Farbausbeute wird untersucht und die optimalen Bedingungen werden ermittelt. Das Ninhydrinreagens enthält keine Reduktionsmittel, so daß Ammoniak nicht erfaßt wird.

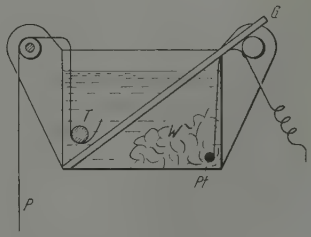
Ammoniumchlorid, das z. B. nach salzsaurer Hydrolyse amidhaltiger Proteine auftritt, stört also nicht. Die Farbausbeuten für die wichtigsten Aminosäuren sind angegeben. Sie liegen zwischen 85 und 105% d. Th. und sind im Konzentrationsbereich von $\sim 0{,}2\ \mu$Mol zu $\pm 2\%$ reproduzierbar. — *Ausführung. Reagentien. 1. Wäßriges Butanol* aus 1000 ml n-Butanol (D_{20} 0,809—815) und 160 ml Wasser. Der p_H-Wert soll zwischen 5,5 und 6,0 liegen. Er wird notfalls mit 0,1 n Salzsäure korrigiert. *2. Ninhydrinreagens.* In 1000 ml des wäßrigen Butanols werden 0,8 g Ninhydrin gelöst. - Die Papierstücke mit den Aminosäureflecken werden in kalibrierte Reagensgläser gebracht, mit 5 ml Ninhydrinreagens versetzt und in ein vorgeheiztes Glycerinbad von 130° C gebracht. Nach 15 min kühlt man unter fließendem Wasser auf Zimmertemperatur ab, füllt mit wäßrigem Butanol auf 10 ml auf und colorimetriert bei 570 mμ. Man mißt zwischen 20 und 60 min nach Entnahme aus dem Bad. Filtrieren erübrigt sich bei Verwendung von Schl. & Sch.-Papier 2043 b.

[1] Angew. Chem. **70**, 188—189 (1958). Oskar Keller-Inst. Tierernähr., Rostock.
Ursula Baumann

Eine neue Technik für die absteigende Papierelektrophorese von Eiweißhydrolysaten und Peptiden beschreibt O. Mikeš[1]. Das Verfahren ermöglicht die gleichzeitige Untersuchung einer größeren Zahl von Proben und die quantitative Analyse der



a



b

Abb. 1a. Prinzip der absteigenden Elektrophorese nach Mikeš. *H, D* obere und untere Rinne; *A* Glaszylinder; *P* chromatographisches Papier; *V* Startpunkt der Probe; *S* Richtung der Elektrophorese; *O* Richtung der Elektroendoosmose

Abb. 1b. Querschnitt der elektrophoretischen Rinne nach Mikeš. *P* Papier; *T* Glasstöckchen; *G* Glasplatte; *W* Watte (in der Funktion des Labyrints); *Pt* Elektrode

Peptide. Auf die Kühlung[3] wird verzichtet, was eine wesentliche Beschleunigung der Arbeit zur Folge hat. Das Prinzip der Methode und der benutzten Einrichtung ist aus Abb. 1a ersichtlich; die gewählten Puffer, welche in den elektrophoretischen Rinnen (Abb. 1b) untergebracht sind, sickern langsam durch das Papier von oben nach unten; die einstellbaren Entfernungen zwischen den Rinnen sind 25, 35 und 45 cm. Der Gleichstrom wird von einem Gleichrichter mit regulierbarer Spannung von 0—10000 V bei 100 Milliamp. geliefert. — *Arbeitstechnik.* Auf die Mittelgerade,

die genau in der Mitte des Papiers (Whatman-Papier Nr. 1) zwischen den Pufferebenen in der oberen und unteren Rinne liegt, werden die Proben in der bei der Papierchromatographie gebräuchlichen Weise als 1 cm lange Striche aufgebracht. Dann wird das Papier in den Rinnen befestigt; nach Einfüllen des gewählten Puffers in die Rinnen wird auch der Papierstreifen gleichmäßig mit demselben Puffer besprüht. Dabei soll das Papier nicht zu feucht werden, weil sonst verwaschene Flecken entstehen, aber auch nicht zu trocken sein, weil es sonst leicht verbrennt. Der Schrank wird danach hermetisch geschlossen, und die Pt-Elektroden werden unverzüglich über die Außenkontakte aus rostfreiem Stahl mit Strom gespeist (man arbeitet meist mit max. 1500 V Spannung und 18—25 Milliamp. Stromstärke; die durchschnittliche Dauer der Elektrophorese von Eiweißstoffenhydrolysat beträgt 90 min). Nach Beendigung der Elektrophorese wird das Papier getrocknet, mit Ninhydrin (0,3%ige Lösung in Aceton oder Methyläthylketon) entwickelt und in bekannter Weise[2] stabilisiert, indem man es durch eine 1%ige $Cu(NO_3)_2$-Lösung in Aceton zieht und trocknet. — Von einzelnen Faktoren (Spannung, Dauer der Arbeit, Startlage, elektrischer Gradient, Leitfähigkeit des Puffers), die den Trennungsvorgang beeinflussen könnten, kommt nach eingehender Untersuchung die besondere Bedeutung den beiden letztgenannten Faktoren zu. Mit dem Anwachsen des elektrischen Gradienten (V/cm) nimmt auch die Schärfe der Trennung zu; die Erhöhung des Gradienten ist aber durch die Speisungsgeschwindigkeit des Papiers mit dem Puffer bei der gleichen Entfernung der Rinnen beschränkt. Für die Zwecke der absteigenden Elektrophorese sind empirisch zwei Typen von Puffern als besonders geeignet befunden worden: der nicht flüchtige Phosphatpuffer nach Sörensen (p_H 7,0; 3,63 g KH_2PO_4 + 14,32 g $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$ in 10 l) und noch besser der flüchtige Pyridin-Acetatpuffer nach H. Michl[3] (p_H 5,6; 4 ml Pyridin + 1 ml Essigsäure in 1 l). Beide Puffer haben praktisch die gleiche Leitfähigkeit (sie sind isokonduktiv). Die Zusammensetzung weiterer isokonduktiver Puffer wird für den p_H-Bereich von 2,55—11,0 tabellarisch wiedergegeben. Die neutralen Aminosäuren bleiben auf der Mittelgeraden, während die basischen und sauren auf Grund der kombinierten Einwirkung von elektrophoretischer Beweglichkeit und von Einfluß des p_H-Wertes des Puffers der gegenseitigen Abtrennung unterliegen. — Die Methode kann mit Vorteil zur Elektrochromatographie und zur quantitativen Analyse von Peptiden benutzt werden; auch die Verwendung des p_H-Quergradienten gelingt besser als bei der Methode der Querpräparation mit unterschiedlichen Puffern nach H. Michl[4]. Zwecks Erleichterung der Wahl des p_H-Bereiches für die Trennung von bestimmten Aminosäuren, deren elektrophoretische Beweglichkeiten unbekannt sind, wird eine graphische Methode angegeben, die die maximalen Unterschiede der effektiven Beladungen in Abhängigkeit vom p_H-Wert mit Hilfe der Henderson-Haselbachschen Gleichung berechnet. Zur quantitativen Auswertung der Elektropherogramme hat sich die modifizierte Methode von Gradationslinien bewährt[5].

[1] Chem. Listy **51**, 138—153 (1957) [Tschechisch]. Chem. Inst. Akad. Wiss. Prag (ČSR). — [2] Wieland, Th., u. E. Kawerau: Nature **168**, 77 (1951); vgl. diese Z. **146**, 310 (1955). — [3] Michl, H.: Mh. Chem. **82**, 489 (1951); vgl. diese Z. **148**, 62 (1955/56). — [4] Mh. Chem. **83**, 210 (1952). — [5] Keil, B.: Chem. Listy **48**, 725 (1954); vgl. diese Z. **146**, 310 (1955). M. Hřivnáč

J. K. Visakorpi und A.-L. Puranen[1] beschreiben die *qualitative und quantitative Bestimmung von Aminosäuren im Urin von Kindern mit Hilfe der Hochspannungspapierelektrophorese.* Die Arbeitsweise schließt sich an die anderer Autoren[2] an. Zu den Untersuchungen wurde ein Gerät der Fa. Dr. Virus KG., Bonn, herangezogen. — *Qualitative Analyse.* Durch eine Membranfiltration wird aus der Urinprobe

das Protein entfernt. Als Pufferlösung dient eine Mischung (1:1) aus 0,75 n Ameisensäure und 1 n Essigsäure, so daß ein p_H-Wert von 2,25 resultiert. Auf den 15 cm breiten Papierstreifen (Schl. & Sch. 2043b) werden 10—100 μl der Urinprobe in einer Breite von 3 cm aufpipettiert, wobei gleichzeitig zur Vermeidung eines Breitlaufens mit Trockeneis gekühlt wird. Die Stromstärke beträgt 1,0—1,1 mA/cm Papierbreite, die Spannung 55 V/cm Länge. Nach 150 min wird das Papier 7 min bei 80° C getrocknet. Es folgt ein Besprühen mit Ninhydrinlösung (0,1% Ninhydrin in Äthanol, versetzt mit 5 Vol-% 2,4,6-Collidin) und schließlich 10 min lang die Farbentwicklung bei 80° C. — Ein Teststreifen zeigt bei einer qualitativen Analyse von 30 μl Urin (500 μg Gesamtstickstoff, 7,5 μg Aminostickstoff) die Auftrennung in: *Taurin, Tyrosin, Glutamin, Asparagin, Threonin, Serin, Alanin, Glycin, Histidin, Arginin und Lysin.* Die auf Glutamin bezogene relative Wanderung, R_{glut}, ist für 29 Aminosäuren angegeben. Die Standardabweichung schwankt im allgemeinen zwischen 1,2 und 2,7%, nur für Taurin, das kaum wandert, liegt sie bei 16%. — Bei *quantitativen Messungen* werden die gefärbten Flecken ausgeschnitten und planimetriert. Jedes Stück wird dann in 4 ml einer alkoholischen Kupfersulfatlösung gelegt (0,2 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ in 100 g 75%igem Äthanol). Nach $^1/_2$ Std wird die Durchlässigkeit mit einem Beckman-Spektrophotometer bei 520 mμ (für Histidin 400 mμ) gemessen. Die Färbung des aminosäurefreien Papieres wird berücksichtigt. Außerdem werden die Ergebnisse auf die Durchlässigkeit eines mit 5 μg Glutamin getränkten Papieres bezogen. Eine untersuchte Probe hat dann einen Aminosäuregehalt von 1 GU, wenn sie die gleiche Durchlässigkeit wie 1 μg Glutamin unter gleichen Bedingungen zeigt. 1 GU entspricht z. B. 3,6 μg Histidin, 0,91 μg Serin, 0,8 μg Threonin, 1,02 μg Taurin, 0,43 μg Alanin und 0,82 μg Glycin. — Zur Ermittlung der Abweichungen bei den quantitativen Bestimmungen wurde eine Probe von 60 μl Urin (500 μg Gesamtstickstoff, 9,1 μg Aminostickstoff) 7 mal untersucht. Es ergaben sich dabei folgende Standardabweichungen: Taurin 37,0%, Glutamin 5,2%, Serin 26,0%, Alanin 9,0%, Glycin 13,0% und Histidin 35,0%. — Schließlich wird die Ausscheidung der einzelnen Aminosäuren über 24 Std von 10 gesunden Kindern im Alter von 2 Monaten bis 13 Jahren mitgeteilt.

[1] Scand. J. Clin. Laborat. Invest. **10**, 196—202 (1958). Children's Clinic, Univ. Helsinki (Finnland). — [2] Werner, G., u. O. Westphal: Angew. Chem. **67**, 251 (1955); vgl. diese Z. **149**, 125 (1956). — Puranen, J., A.-L. Puranen u. N. Hallmann: Ann. Paed. Fenn. 1958. Im Druck. — Gross, D.: Nature (London) **178**, 29 (1956); vgl. diese Z. **161**, 453 (1958). — Block, R. J., E. L. Durrum u. G. Zweig: A Manual on Paperchromatography and Paperelectrophoresis; p. 88. New York, 1955.

D. Jentzsch

Die Verwendung von nephelometrischen Messungen bei der mikrobiologischen Bestimmung von Aminosäuren empfehlen S. S. Schiaffino, J. J. McGuire und H. W. Loy[1]. Es handelt sich um eine Modifikation der Methode von Williams[2], die darauf beruht, daß das Wachstum von Bakterienkulturen durch Zusatz verschiedener Aminosäuren charakteristisch beeinflußt wird und daß dieses Wachstum nephelometrisch gemessen werden kann. Untersucht wird die Reaktion von *S. faecalis, L. plantarum,* und *L. mesenteroides* auf *Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan* und *Valin.* Der Vorteil der Methode gegenüber der titrimetrischen Bestimmung liegt in der höheren Empfindlichkeit, der kürzeren Inkubationszeit und der leichteren Handhabung bei gleicher Genauigkeit. — Die Inkubation wird 18 Std bei 34° ± 0,5° C in einem von H. W. Loy jr., W. P. Parrish und S. S. Schiaffino[3] beschriebenen Medium durchgeführt. Die Trübung wird in einem Beckman Spektrophotometer B oder in einem Bausch und Lomb Spectronic 20 bei 550 mμ nach der von H. W. Loy u. Mitarb.[3]

bei Vitamin B-Untersuchungen angewendeten Methode gemessen. Die Untersuchung verschiedener Proteine nach saurer oder alkalischer Hydrolyse[4] führen zu Ergebnissen, die mit denen der Modellversuche übereinstimmen.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **41**, 420—423 (1958). Dep. Health, Educat. Welfare, Washington D. C. (USA). — [2] Cornell Univ. Agric. Exp. Stat., Memoir 337 (1955). - [3] J. Assoc. of agric. Chemists **39**, 172 (1956); **41**, 61 (1958). — [4] Spies, J. P., E. J. Coulson, D. C. Chambers, H. S. Bernton, H. Stevens and J. H. Shimp: J. Amer. chem. Soc. **73**, 3995 (1951). Ursula Baumann

Pikrate von Erdalkalien können zur Isolierung von L-Phenylalanin aus Proteinhydrolysaten dienen, wie A. S. M. Selim, M. E. A. Ramadan und M. M. El-Sadr[1] fanden. Phenylalanin bildet hierbei ein schwerlösliches Komplexsalz. Aminosäuren, deren Komplexsalze ebenfalls schwerlöslich sind (z. B. Arginin), werden vorher durch Chromatographie an Aktivkohle abgetrennt. Die Methode ist zur Isolierung von Phenylalanin aus hydrolysiertem Eieralbumin benutzt worden. — *Arbeitsweise.* 200 mg Eieralbumin werden in 1,2 l 8 n Schwefelsäure 30 Std gekocht. Das Hydrolysat wird mit der doppelten Menge Wasser verdünnt und das unlösliche Humin entfernt. Dann neutralisiert man mit Calciumhydroxyd und fällt Ca- und SO_4-Ionen mit Bariumhydroxyd und Oxalsäure aus. Die Lösung wird im Vakuum auf 2 l eingeengt und mit Schwefelwasserstoff gesättigt. Dann fügt man 22 g in Wasser gelöste Pikrinsäure hinzu und tropft die Lösung mit einer Geschwindigkeit von 1,5 l/Std auf eine Kolonne (⌀ 9 cm) mit 350 g Aktivkohle. Man wäscht mit H_2S-Wasser nach, bis die Ninhydrinreaktion negativ wird. Dann eluiert man die Säule mit H_2S-Wasser, das 5% Essigester enthält und prüft das Eluat nach R. Kuhn und P. Desnuelle[2] auf Phenylalanin. Phenylalanin ist in der Fraktion zwischen 2 und 6,5 l enthalten. Diese Fraktion wird im Vakuum auf 250 ml eingeengt. Beim Stehen über Nacht fällt eine geringe Menge Tyrosin, das als Verunreinigung mitgeht, aus. Nun versetzt man die zum Kochen erhitzte Lösung mit Strontiumpikrat (55 g). Beim Abkühlen scheidet sich das Komplexsalz Phenylalanin + Strontiumpikrat aus, das nach 12 Std abfiltriert wird. Zur Isolierung von Phenylalanin suspendiert man das Komplexsalz in 200 ml heißem Wasser, fügt 40 ml 50%ige Schwefelsäure hinzu und erhitzt 1 Std. Dann filtriert man von Strontiumsulfat und Pikrinsäure ab und extrahiert die restliche Pikrinsäure mit heißem Benzol. Die Schwefelsäure- und Strontiumionen werden mit Calciumhydroxyd, Bariumhydroxyd und Oxalsäure entfernt. Hierauf filtriert man und engt im Vakuum ein, bis Phenylalanin auskristallisiert. Man versetzt mit dem 3fachen Volumen heißem Äthanol und läßt bei 0° C über Nacht stehen. Das mit 80%igem Äthanol nachgewaschene Phenylalanin wird getrocknet und gewogen.

[1] J. biol. Chemistry **229**, 547—552 (1957). Ein Shams Univ., Kairo (Ägypten). — [2] Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 1907 (1937). G. Kainz

Die Bedingungen zur Nitrierung und Bestimmung von Phenylalanin studierten D. Monnier und R. Guerne[1] mit Hilfe der Polarographie und Chromatographie. Da bei der Nitrierung von Phenylalanin Nitrobenzoesäuren entstehen, wurden diese und ähnliche in die Untersuchung einbezogen. Bei verschiedenen p_H-Stufen wurden die mittels Polarographen ermittelten Kurven aufgezeichnet. — Zur *Bestimmung* wird eine gewogene Probe in einem 10 cm langen Röhrchen mit flachem Boden und 2 cm ⌀ mit 0,5 ml 10 n Salpetersäure versetzt und elektrisch 1,5 Std im Kochen erhalten. Ein kleiner Rückflußkühler ist in das Röhrchen eingehängt. Nach Erkalten wird mit 1 n Kalilauge neutralisiert, in einen 10 ml-Meßkolben übergeführt, mit 5 ml p_H 6-Puffer versetzt und der Sauerstoff mit Wasserstoff 10 min lang vertrieben.

Dann werden die Messungen mit einer Quecksilbertropfelektrode ausgeführt. Die mindestens noch feststellbare Menge beträgt 30 μg in 10 ml. Bei Konzentrationen von $2{,}4 \cdot 10^{-4}$ bis $6 \cdot 10^{-3}$ m beträgt die Fehlergrenze $< 2{,}5\%$, bei $2 \cdot 10^{-5}$ m 12%. — Die papierchromatographische Bestimmung wird nach der aufsteigenden Methode auf gepuffertem oder nicht gepuffertem Papier mit verschiedenen Laufmitteln durchgeführt. Es lassen sich auf diese Weise die verschiedenen Nitrierungsprodukte und auch die verschiedenen Oxydationsprodukte erkennen.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 90—100 (1958). Univ. Genf (Schweiz).
B. Rossmann

Für den papierchromatographischen Nachweis von Hydroxyprolin neben Prolin haben H. Stegemann und H. F. Griffin[1] ein spezifisches Sprühreagens mit Chloramin T und p-Dimethylaminobenzaldehyd als wirksamen Komponenten entwickelt. Mit diesem Reagens, das bei Gegenwart von Hydroxyprolin eine rotblaue Färbung erzeugt, sollen noch 0,5 μg Hydroxyprolin je 1 cm² Chromatographierpapier (Schl. & Sch. Nr. 2043 b) nachzuweisen sein. — *Ausführung.* Auf die trockenen Papierchromatogramme sprüht man 0,02 m Chloramin T-Lösung (560 mg Chloramin T [p-Toluolsulfonchloramidnatrium $\cdot$ $3H_2O$] + 50 ml dest. Wasser + 50 ml Methanol), bis die Papiere eben durchfeuchtet sind. Danach läßt man 10 min an der Luft trocknen, besprüht nun mit Aldehydlösung (5 g p-Dimethylaminobenzaldehyd + 70 ml n-Propanol + 5 ml 6 n Schwefelsäure) und läßt wiederum 10 min trocknen. Die trockenen Papiere erwärmt man dann während 3—5 min in einem Trockenschrank auf etwa 65° C. Bei Gegenwart von Hydroxyprolin entsteht sofort eine blaurote Färbung. Als Lösungsmittel für die chromatographische Trennung an Rundfiltern (20 cm Durchmesser; Papierdocht 4×30 mm) wird das System Aceton-0,1%ige wäßrige Ammoniaklösung (75:25) empfohlen. Der R_f-Wert für Hydroxyprolin beträgt 48 und der für Prolin 55.

[1] Naturwissenschaften **45**, 263—264 (1958). Med. Forschungsanst. d. Max-Planck-Ges., Göttingen. B. Schühlein

Nach H. Stegemann[1] ist die obige Reaktion, also die Oxydation bei p_H 6 mit Hilfe von p-Toluolsulfonchloramidnatrium (Chloramin T) zu Pyrrol und dessen Farbbildung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlichs Aldehyd) in perchlorsaurer Lösung auch *zur quantitativen Bestimmung von Hydroxyprolin* geeignet. Der Analysenfehler liegt bei $\pm 2\%$. — *Arbeitsweise.* 2 ml Lösung, die 2—20—40 μg Hydroxyprolin enthalten können, werden in einem kalibrierten Reagensglas mit 1 ml 0,05 m Chloramin T-Lösung versetzt. Zu deren Herstellung löst man 2.82 g Chloramin T in 40 ml Wasser, gibt dazu 60 ml dest. Methylglykol und 100 ml Acetat-Citratpuffer, p_H 6 (50,0 g Citronensäure $\cdot$ $1H_2O$ + 12 ml Eisessig, 120 g Natriumacetat $\cdot$ $3H_2O$ + 34 g NaOH in 1 l). Nach 20 min gibt man 2 ml 4 m Perchlorsäurelösung zu, schüttelt, wartet 5 min, fügt 1 ml p-Dimethylaminobenzaldehydlösung (20 g in 200 ml dest. Methylglykol gelöst) zu, schüttelt um und erwärmt 15 min im Wasserbad von 60 $\pm$ 1° C. Nach Abschrecken unter der Wasserleitung wird die Extinktion im Reagensglas (150×16 mm, optisch kalibriert) im Elko III mit Filter S 55 gemessen. Für die Reagensgläser ist ein Halter aus Hartgummi erforderlich, der in den Küvettenschlitten eingeklemmt werden kann. Zur Eichung dienen Lösungen von L-Hydroxyprolin mit 0, 5, 10 und 20 μg bei Anwendung von 2 ml Perchlorsäurelösung. Empfindlicher wird die Bestimmung mit 1 ml Perchlorsäurelösung und Einsatz von 2, 4 und 8 μg Hydroxyprolin. Zur Umrechnung auf die 1 cm-Küvette dient der Faktor 0,750.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **311**, 41—45 (1958). B. Rossmann

Die quantitative Bestimmung von Hydroxyprolin mit Hilfe der Papierchromatographie läßt sich nach H. R. Roberts und M. G. Kolor[1] wesentlich empfindlicher und auch spezifischer gestalten, wenn an Stelle der früher empfohlenen Isatinlösung[2] eine Lösung aus Ninhydrin, Isatin und Triäthylamin als Farbreagens verwendet wird. — *Arbeitsweise.* Die Probenlösung mit etwa 50 mg Hydroxyprolin in 100 ml 10%igem Isopropylalkohol wird nach dem bereits früher angegebenen Verfahren[2] chromatographiert. Die entwickelten Chromatogramme werden 1 Std bei 60° C getrocknet, anschließend in die Reagenslösung getaucht (270 mg Ninhydrin, 130 mg Isatin und 2 ml Triäthylamin werden mit wassergesättigtem n-Butanol auf 100 ml verdünnt), erneut 15 min bei 60° C getrocknet und nach der Farbdichtemethode ausgewertet. Der durchschnittliche Fehler der Bestimmungsmethode ist mit ± 0,9% angegeben.

[1] Nature (London) **181**, 837 (1958). Nat. Dairy Prod. Corp., Oakdale, Long Island, New York (USA). — [2] Roberts, H. R., u. M. G. Kolor: Analyt. Chemistry **29**, 1800 (1957); vgl. diese Z. **163**, 308 (1958). K. Machner

Eine Methode zur Bestimmung von Hydroxyprolin in der Leber teilt I. G. Fels[1] mit. Es handelt sich um eine Modifikation des von R. E. Neuman und M. A. Logan[2] angegebenen Verfahrens, die darin besteht, daß das störende Tyrosin vorher quantitativ an Norit adsorbiert wird. In einem Gemisch von Hydroxyprolin mit der 4—8fachen Menge Tyrosin findet man Hydroxyprolin zu 97—103% wieder. Die normale Rattenleber enthält 1,26 ± 0,013 mg Hydroxyprolin/Gramm entfettete Trockenleber. Durch Multiplikation mit dem Faktor 7,46[3] erhält man den Collagengehalt in Prozenten. — *Ausführung.* Frische Rattenlebern homogenisiert man mit 100 ml Aceton/Äther (1:1) und läßt bei Raumtemperatur über Nacht stehen. Man nutscht den Rückstand ab, macht ihn lufttrocken, wiegt, bringt ihn in eine dickwandige Flasche von 100 ml Inhalt (pharmazeutisches Serumgefäß), füllt 25 ml 6 n Salzsäure ein, verschließt mit Gummistopfen und der dazugehörigen Aluminiumkappe fest und erhitzt 20 Std auf einem Sandbad von 200° C. Nach dem Abkühlen filtriert man durch Glasfritte, neutralisiert mit 3 n Natronlauge gegen Kongorot und notiert das Volumen. 10 ml dieser Lösung schüttelt man 2mal 15 min mit 1 g Norit (siehe unten), filtriert (Whatman 42), wäscht 3mal mit je 10 ml 5%iger Essigsäure und füllt das Gesamtfiltrat mit 5%iger Essigsäure auf 50 ml auf. In 1 ml dieser Lösung bestimmt man das Hydroxyprolin nach [2]. — 50 g *Norit* kocht man 10 min mit 1,5 l 5%iger Essigsäure, nutscht ab und wäscht mit 1 l Wasser. Unter Rühren setzt man 100 ml 1%ige Natriumcyanidlösung zu, wäscht mit 2 l Wasser und macht lufttrocken.

[1] Clin. Chemistry **4**, 62—65 (1958). — [2] Neuman, R. E., u. M. A. Logan: J. biol. Chemistry **184**, 299 (1950). — [3] Neuman, R. E., u. M. A. Logan: J. biol. Chemistry **186**, 549 (1950). E. Müller, Würzburg

Histochemische Nachweise von Aminogruppen im Eiweiß frischer Gewebeschnitte von Bohnenkeimblättern beschreibt K. Surrey[1]. p-Aminobenzaldehyd (Reagens A) und p-Dimethylaminobenzaldehyd (Reagens B) geben auf Grund ihrer freien Aldehydgruppen mit Aminogruppen eine Schiffsche Reaktion. Die resultierenden Schiffschen Basen werden diazotiert und mit H-Säure gekuppelt. — *Arbeitsweise.* Bohnen werden in Filterpapier befeuchtet, bei Zimmertemperatur bis zur Keimung dunkel gehalten, und dann die Sämlinge auf Sand bei Licht weitergezogen. Die Gewebeschnitte werden von teilweise ergrünten Keimblattstücken, welche zwischen feuchtem Mark gehalten werden, mit dem Rasiermesser freihändig angefertigt und 1 Std vor der Ausführung des histochemischen Nachweises in

70%igem Alkohol unter vermindertem Druck abgetötet und fixiert. — *Histochemischer Nachweis mit Reagens A.* Gewebeschnitte werden zur Hydrolyse der Stärke 5 min in 1%ige Natronlauge getaucht, anschließend 4 Std bei 40—50° C in eine filtrierte, gesättigte Lösung von p-Aminobenzaldehyd in 50%igem Alkohol, der auf 20 ml 5 ml Eisessig zugesetzt worden sind, gebracht, dann 2 mal mit Alkohol-Eisessiggemisch (4:1) gewaschen, 10 min bei 0—4° C in einer Mischung von 10 ml 5%iger Schwefelsäure und 20 ml 5%iger Natriumnitritlösung diazotiert, zur Zerstörung der restlichen salpetrigen Säure mit 5%iger Ammoniumsulfaminatlösung bei 0—4° C gewaschen und 20 min in gesättigter Lösung von H-Säure (Eastman Kodak Co.) in Veronalacetatpuffer von p_H 9,0 behandelt. Zellen, welche freie Aminogruppen enthalten, färben sich violett. — *Histochemischer Nachweis mit Reagens B.* Gewebeschnitte werden 4 Std bei 40—50° C in gesättigte Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd, welche 5 ml Eisessig auf 20 ml enthält, gelegt, 2 mal mit 5%iger Essigsäure gewaschen, dann bei Zimmertemperatur im Natriumnitrit-Schwefelsäuregemisch (wie oben) behandelt, mit 5%iger Ammoniumsulfaminatlösung gewaschen und wie beim Reagens A in H-Säurelösung gebracht. Die Zellen mit freien Aminogruppen färben sich purpurrot. Die sich ebenfalls färbenden Stärkekörner im Zellgewebe werden wie oben durch Hydrolyse der Stärke entfärbt.

[1] Stain Technol. **33**, 109—114 (1958). Argonne Nat. Lab., Lemont, Ill. (USA).
W. Grütz

Eine Methode zur Mikrobestimmung von Proteinen und Peptiden teilt H. Nielsen[1] mit. Es handelt sich um eine modifizierte Biuretmethode, bei der die Farbe des Kupfersalzes der Diäthyldithiocarbaminsäure ausgewertet wird. Der Anwendungsbereich reicht von Tripeptiden bis zu Proteinen. Mit der gleichen Genauigkeit, mit der Milligrammengen nach Kjeldahl bestimmt werden können, lassen sich hier Größenordnungen von μg bestimmen. Wegen ihrer leichten und schnellen Ausführbarkeit ist die Methode für Kliniklaboratorien geeignet. — *Ausführung. Plasma und Serum.* Eine 1 ml-Probe verdünnt man mit 49 ml isotonischer Natriumchloridlösung. 1 ml der Verdünnung mischt man mit 2 ml 10%iger Trichloressigsäurelösung in einem konischen Zentrifugenglas, zentrifugiert 10 min bei 3000 U/min, verwirft den Überstand und läßt die Flüssigkeit abtropfen. Den zurückbleibenden Niederschlag löst man in 5 ml einer 5%igen $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$-Lösung, versetzt mit 1 Tr. einer 4%igen $CuSO_4 \cdot 5H_2O$-Lösung und schüttelt sanft 30 min lang mechanisch. Den als Phosphat gefällten Kupferüberschuß zentrifugiert man ab (10 min), gießt den Überstand auf eine Glasfritte (3 G 5, Jena) und saugt ab. 1 ml Filtrat mischt man mit 5 ml Phosphatlösung und setzt einige Kristalle Natriumdiäthyldithiocarbaminat zu. Die gelbe Farbe ist nach 15 min voll entwickelt. Dann mißt man gegen die Phosphatlösung die Extinktion bei 440 mμ. Auf einer Eichkurve trägt man die Cu^{2+}-Konzentration, 1—6 μg gegen die Extinktion auf. In diesem Bereich ist die Funktion linear. Aus der Kurve entnimmt man den der gemessenen Extinktion entsprechenden Kupferwert in μg, multipliziert ihn mit 1500 (Verdünnung) und 9,80 (experimentell ermittelter Faktor) und erhält den Eiweißgehalt in Prozenten. — *Cerebrospinalflüssigkeit.* Eine 1 ml-Probe mischt man mit 1 ml Trichloressigsäurelösung im Zentrifugenglas und verfährt wie oben. Das Nutschfiltrat verdünnt man mit Phosphatlösung 1:1. Die Verdünnung ist hier nur 10fach. μg Cu · 10 · 9,80 = mg Protein/100 ml. — Die Fritte reinigt man in umgekehrter Saugrichtung zuerst mit 0,85%iger Natriumchloridlösung, dann mit 2 n Salzsäure und 2 mal mit Wasser.

[1] Acta chem. scand. (Kopenhagen) **12**, 38—43 (1958). Nielsen's Lab., Aabyhoj Dänemark).
E. Müller, Würzburg

Zur colorimetrischen Eiweißbestimmung in Cerebrospinalflüssigkeit und Urin verwendet A. C. KIBRICK[1] das von G. R. KINGSLEY[2] empfohlene Biuretreagens. Es wird eine einfache Methode beschrieben, die sich gut für Routineanalysen eignet. — *Arbeitsweise.* Man mischt gleiche Volumina der zu untersuchenden *Cerebrospinalflüssigkeit* und der Reagenslösung[2] (das Biuretreagens wird mit 14%iger Natronlauge angesetzt), läßt das Reaktionsgemisch 15 min bei Raumtemperatur stehen und mißt dann die Extinktion der erhaltenen Farblösung bei 540 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Zum Aufstellen der Eichkurve wird eine Eiweißlösung verwendet, die aus 30%igem Rinderalbumin hergestellt wird und mit physiologischer Kochsalzlösung („normal saline") entsprechend verdünnt worden ist. Der Eiweißgehalt der Cerebrospinalflüssigkeit beträgt im Durchnitt 34 mg/100 ml. — *Eiweißbestimmung im Urin.* Je nach der zu erwartenden Eiweißkonzentration werden 2—5 ml der auf p_H 7 eingestellten Urinprobe in einem Zentrifugenglas mit der gleichen Menge 10%iger Trichloressigsäurelösung versetzt (bei sehr hohem Eiweißgehalt werden 2 ml der entsprechend verdünnten Urinprobe verwendet). Man mischt gut durch, läßt das Reaktionsgemisch einige Minuten stehen, zentrifugiert und verwirft die überstehende Flüssigkeit. Der Rückstand wird in 5 ml 2%iger Natronlauge suspendiert und unter Erwärmen gelöst (Wasserbad, 95° C). Die erhaltene Eiweißlösung wird sofort abgekühlt, mit Wasser auf 5 ml verdünnt und mit der gleichen Menge (5 ml) Reagenslösung versetzt. Nach 15 min wird photometriert. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Zum Aufstellen der Eichkurve werden die mit 2%iger Natronlauge entsprechend verdünnten Eiweißlösungen 5 min im kochenden Wasserbad erhitzt und in der beschriebenen Weise analysiert.

[1] Clin. Chemistry 4, 232—236 (1958). New York Vet. Administ. Hosp., N. Y. (USA). — [2] J. Lab. clin. Med. 27, 840 (1942). K. MACHNER

Zur spektrophotometrischen Eiweißbestimmung von Algenprotein werden nach B. R. HEWITT[1] 5 ml einer Algenaufschwemmung zentrifugiert, gewaschen und mit 5 ml 1 n Natronlauge 10 min im Wasserbad erhitzt. Dann wird wieder zentrifugiert und der alkalische Extrakt mit 5 ml Wasser vermischt. Davon wird 1 ml mit 5 ml einer alkalischen Kupferlösung versetzt. Die Kupferlösung wird aus 1 ml einer 0,5%igen $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$-Lösung in 1%iger Na- oder K-Tartratlösung und 50 ml einer 2%igen Natriumcarbonatlösung in 0,1 n Natronlauge hergestellt. Die Kupfersulfatlösung muß immer frisch bereitet werden. Nach 10 min setzt man 0,5 ml des 1:1 verdünnten Phenolreagenses nach FOLIN-CIOCALTEU zu und mißt nach weiteren 40 min die Extinktion der entstandenen Färbung bei 750 mμ. Blindversuche und die Aufstellung einer Eichkurve sind erforderlich. Das Ergebnis wird als μg Protein je Milliliter der Algensuspension berechnet. Außerdem wird die Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL durchgeführt und mit dem Faktor 6,25 auf Eiweiß umgerechnet. Der Fehler der photometrischen Bestimmung liegt um 5%.

[1] Nature (London) **182**, 246 (1958). Dept. Agric. and Stock, Toowoomba, Queensland (Australien). B. ROSSMANN

Eine Methode zur Abscheidung von β-Lipoprotein aus normalen und hyperlipämischen menschlichen Seren teilen A. SCANU, L. A. LEWIS und I. H. PAGE[1] mit. Die Methode beruht auf der Fällung mit Phenol-Heparin. In eingehenden Untersuchungen wird festgestellt, daß die Fällung quantitativ ist und das Verhältnis Cholesterin/Phosphatid bei der Fällung mit Phenol-Heparin das gleiche ist wie bei der Abtrennung von β-Lipoprotein durch Ultrazentrifugieren. Bei Einhalten optimaler Bedingungen ergibt sich ein brauchbares Verfahren. — *Ausführung.* Im

Zentrifugenglas verdünnt man 1 ml Serum mit 9 ml 0,85%iger Natriumchloridlösung, setzt 100 U.S.P.-Einheiten Heparin zu, schüttelt schwach, fügt 2 ml 5%ige Phenollösung in 0,85%iger Natriumchloridlösung hinzu, mischt durch Umkehren, und läßt 24 Std bei ~ 24° C stehen. Man zentrifugiert 30 min bei 3000 U/min, dekantiert, nimmt den Niederschlag in 1 ml obiger Natriumchloridlösung auf und extrahiert Cholesterin und Phosphatide nach J. Folch, L. Ascoli, M. Lees und N. LeBaron[2] mit Chloroform-Methanol (1:1). Das Cholesterin bestimmt man nach L. A. Abell, B. B. Levy und F. E. Kendall[3], den Phosphatidphosphor nach C. H. Fiske und Y. Subbarow[4], wobei man durch Multiplikation mit 25 den Phosphatidwert erhält. Die Methode ist bei Seren mit einem Gesamtfettgehalt von 500—1200 mg/100 ml anwendbar, bei Hyperlipämie mit höheren Werten verdünnt man auf 600—900 mg/100 ml. Aus der Gesamtcholesterinmenge im Niederschlag läßt sich indirekt die β-Lipoproteinkonzentration bestimmen.

[1] J. Lab. clin. Med. **51**, 325—332 (1958). Clin. Found. und Frank E. Bunts Educat. Inst., Cleveland, Ohio (USA). — [2] J. biol. Chemistry **191**, 833 (1951). — [3] J. biol. Chemistry **195**, 357 (1952). — [4] J. biol. Chemistry **66**, 375 (1925); vgl. diese Z. **85**, 110 (1931). E. Müller, Würzburg

Ein Verfahren zur Bestimmung von Glycerin im Blut oder Serum durch Oxydation mit Perjodat zu Formaldehyd und Ameisensäure sowie die photometrische Bestimmung durch Umsetzung des Aldehyds mit Chromotropsäure wird von D. Biesold und E. Strack[1] für Reihenversuche an Kleintieren angegeben. — *Ausführung.* Zu 2,9 ml dest. Wasser fügt man 0,1 ml Blut oder Serum, 1 ml 1,8%ige Zinksulfatlösung (nach Somogy) und 1 ml 0,1 n Natronlauge. Nach dem Durchschütteln zentrifugiert man die Mischung, überführt 2 ml der klaren Flüssigkeit in ein Zentrifugenglas und temperiert die Probe in einem Thermostat auf 15° C. Das Zentrifugenglas soll dabei in einen Ständer eingesetzt sein, der den Einfall von direktem Licht verhindert. Nun gibt man 0,1 ml 0,03 m Natriumperjodatlösung in 2,9%iger Schwefelsäure hinzu, schüttelt um, versetzt nach einer Wartezeit von genau 3 min mit 0,1 ml 1 n Arsenitlösung und schüttelt abermals. Nach dem Einpipettieren von 0,1 ml 0,05 n Silberacetatlösung und 0,5 ml 25%iger Salzsäure entnimmt man die Probe dem Ständer und schüttelt solange, bis sich ein flockiger Niederschlag bildet, der abzentrifugiert wird. 1 ml der klaren Flüssigkeit versetzt man in einem Reagensglas mit 1 ml 0,25%iger wäßriger Chromotropsäurelösung, die stets frisch bereitet und klar filtriert sein soll. Nach dem Abkühlen der Probe in Eis-Kochsalzmischung versetzt man unter Schütteln mit 5 ml 80%iger Schwefelsäure und bewahrt die Probe schließlich 20 min im Dunkeln in einem auf 60° C erhitztem Wasserbad auf. Das dem Wasserbad entnommene Reaktionsgemisch wird unter fließendem Wasser abgekühlt und nun im Photometer oder im Lange-Colorimeter unter Verwendung eines Grünfilters gegen Wasser oder verd. Schwefelsäure gemessen. Die Extinktion wertet man mit Hilfe einer Eichkurve aus, die unter Verwendung von reinem doppelt dest. Glycerin ermittelt worden ist. Diese Kurve erfüllt das Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz bis zu Glycerinkonzentrationen von 70 mg-% im Blut. Liegen höhere Konzentrationen vor, so verwendet man nur 0,05 ml Blut oder Serum zur Untersuchung. Die mittlere Fehlerbreite des Verfahrens wird mit 2% angegeben. Ein Blindwert soll für jeden Ansatz mitbestimmt werden. Nach Untersuchungen der Verff. hat Kaninchenblut einen mittleren Blindwert von 3,9 mg-% $\pm$ 2,7 mg-%.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **311**, 115—120 (1958). Univ. Leipzig.

B. Schühlein

Zur photometrischen Bestimmung proteingebundener Hexosen eignet sich nach C. H. Brieskorn und H. W. Berg[1] die Farbreaktion mit Anthron. Sie wird nach einer Modifikation der von F. A. Loewus[2] zur Bestimmung der freien Kohlenhydrate angegebenen Arbeitsvorschrift ausgeführt. — *Arbeitsweise.* Gegebenenfalls muß das zu untersuchende Glykoprotein vor der Hexosenbestimmung entfettet werden. Man behandelt die Probe (2 g eines wasserreichen oder 0,3 g eines wasserarmen Proteins) 30 min bei Raumtemperatur mit 20 ml Aceton, filtriert, digeriert den Rückstand 2mal mit je 20 ml Aceton in der Siedehitze, verdampft die vereinigten Acetonauszüge zur Trockne, versetzt den Eindampfrückstand mit Wasser und extrahiert die trübe Lösung mit Petroläther. In der organischen Phase befindet sich jetzt das Fett, während die wäßrige Phase Glykoproteide enthalten kann, die bei der Maceration der wasserreichen Proteine gelöst worden sind (sie wird daher aufgehoben und später zum Auffüllen der Proteinlösung verwendet). Zur Herstellung der Proteinlösung wird die entfettete Probe mit 10 ml 1 n Natronlauge unter Rückfluß erhitzt (maximal 30 min), bis sich alles Protein gelöst hat. Man spült die Lösung in einen 100 ml-Meßkolben und füllt zunächst mit der bei der Entfettung gewonnenen wäßrigen Phase sowie mit Wasser zur Marke auf. Zur Hexosenbestimmung wird 1 ml der erhaltenen Proteinlösung mit nicht mehr als 100 μg Glucose in einem mit Glasstopfen verschließbaren Reagensglas mit Wasser auf 2 ml verdünnt. Man fügt 0,5 ml einer 2%igen Anthronlösung in Essigsäureäthylester hinzu und unterschichtet mit 5 ml nitratfreier konz. Schwefelsäure (dabei wird im Eisbad gekühlt). Unter weiterer Kühlung (bei fließendem Leitungswasser) werden dann die 3 Flüssigkeiten durch kräftiges Schütteln des verschlossenen Glases intensiv gemischt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach genau 5 min wird maximale Farbintensität erreicht. Man kühlt ab und mißt die Extinktion der erhaltenen Farblösung bei 625 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt (die Blindlösung enthält an Stelle der Anthronlösung 0,5 ml reinen Essigester). An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Im angegebenen Konzentrationsbereich folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. und -Forsch. **108**, 170—174 (1958). Univ. Münster in Westfalen. — [2] Analyt. Chemistry **24**, 219 (1952); vgl. diese Z. **138**, 143 (1953).

K. Machner

Einen Beitrag zur Bestimmung des Kohlenhydratanteils innerhalb der einzelnen Serumeiweißfraktionen liefert H. Südhof[1]. Die an sich bekannte Methode, Pherogramme auf Kohlenhydrate anzufärben[2] wird so modifiziert, daß man zu einigermaßen reproduzierbaren Ergebnissen kommt. Die Mittelwerte aus 12 Versuchen zeigen, daß die Fehlerbreite in der Albuminfraktion zwar bei 45%, in der α_1-Globulinfraktion bei 28% liegt, der mittlere Fehler für α_2-Globulin, β-Globulin und γ-Globulin aber nur 8,5, 15,5 bzw. 12,3% beträgt, wobei zu bedenken ist, daß schon bei der papierelektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine mit einem Fehler von 10% zu rechnen ist. — *Ausführung.* Die Papierelektrophorese wird nach dem Verfahren von W. Grassmann und K. Hannig[3] mit 0,03 ml Serum auf Schl. & Sch.-Papier 2043b durchgeführt. Die getrockneten Pherogramme werden längs geteilt und teils auf Eiweiß, teils auf Kohlenhydrate angefärbt. Zur *Kohlenhydratfärbung* legt man die Papierstreifen 10 min in eine Perjodsäurelösung (1 g in 30 ml Wasser + 70 ml abs. Alkohol), wässert 10 min in Leitungswasser, bringt weitere 2 min in dest. Wasser und schließlich in ein Farbbad, in dem sie verbleiben, bis sich die einzelnen Fraktionen abzeichnen. (Zur Herstellung des Farbbades löst man 1 g acridinfreies Pararosanilin in der Kälte in 30 ml 1 n Salzsäure, setzt eine Lösung von 1 g Kaliummetabisulfit in 170 ml Wasser zu, schüttelt nach 48 Std mit

einer Spatelspitze Tierkohle und filtriert durch Kohlefilter; die Lösung muß klar und fast farblos sein.) Sobald das Papier rosa wird, legt man die Streifen in ein Formaldehyd-Ammoniakbad (gleiche Teile 1 n Lösungen), wobei sie intensiv rot werden. Nach 1—3 min bringt man sie 5 min in vergällten Alkohol, dann in ein Gemisch von Alkohol und 1 n Salzsäure (5:3), das bis zur vollständigen Entfärbung des Papiers öfter erneuert wird. Dann wäscht man nochmals mit Alkohol, anschließend mit Äther und trocknet mit einem Föhn. Die völlig trockenen Streifen gibt man für 2—3 Std in ein Transparentbad (Bromnaphthalin + Paraffinöl [1:1]) und wertet dann mit einem Eppendorf-Gerät (Quecksilber-Filter 578, Photozelle 90 S) aus.

[1] Klin. Wschr. **1958**, 536—538. Med. Univ.-Klinik, Göttingen. — [2] Köiv, E.: Scand. J. clin. Lab. Invest. **5**, 99 (1953); Wunderly, Ch. u. S. Piller: Klin. Wschr. **1954**, 425. — [3] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952); vgl. diese Z. **140**, 293 (1953). Ursula Baumann

Die freien Zucker in der Skelettmuskulatur von Kabeljau (Gadus Callarias) und Hering (Clupea harengus) bestimmt N. R. Jones[1] im Papierchromatogramm, nachdem die den Nachweis von Ribose störenden stickstoffhaltigen Komponenten (Ammoniak, Trimethylammoniumverbindungen und Aminosäuren) durch Austauschermischungen entfernt worden sind. Die dabei beobachtete geringe Hydrolyse von Adenosin stört die Bestimmung nicht. Entsalzung durch Elektrolyse führt nicht zu eindeutigen Ergebnissen, da Ribose mit Aminosäuren reagiert, und auch aus gebundener Form in Freiheit gesetzt wird. Freie Ribose kommt im Muskel des lebenden Kabeljaus nicht vor und wird erst nach dem Tod durch Autolyse frei. 14—20 Std danach finden sich zwischen 1,9—6,2 mg Ribose/100 g und 5,1—38,2 mg Glucose/100 g im Gewebe des Kabeljaus. Die Werte für den Hering sind ähnlich. Die Genauigkeit der Methode beträgt $\pm$ 5—6% bei Mengen von 5—10 μg. — *Ausführung. a)* 10 g Muskelgewebe werden mit 30 ml 10%iger Trichloressigsäure ausgezogen und zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird mehrfach mit Äther ausgezogen und die wäßrige Phase weiterverarbeitet. *b)* 10 g Gewebe werden mit 32 ml Äthanol ausgezogen, der Rückstand wird 3mal mit 80%igem Alkohol extrahiert bis zu einem Gesamtvolumen von 250 ml. Dieser Extrakt wird portionsweise mit der 3fachen Menge Chloroform ausgeschüttelt und die obere wäßrige Phase verwendet. — *Austauschermischungen* (alle 1:1). Amberlite IR 120/Dowex 2, Amberlite IR 120/Amberlite IR 4 B, PSX/Deacidit FF, Dowex-50/Amberlite IR 4 B. Man füllt die Austauscher in Säulen und saugt das Wasser ab, bis die obere Fläche gerade trocken geworden ist. Die Austauschermischungen werden dann in verschlossenen Flaschen aufbewahrt. 2 g der Austauschermischung werden bei Zimmertemperatur mit Extrakt *a* oder *b* (die Menge soll 2 g Gewebe entsprechen) geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren werden die Proben durch Gefriertrocknung lyophilisiert und bei 25° C 16—24 Std absteigend mit Phenol-Ammoniak, Collidin und Butanol-Essigsäure[2] chromatographiert. Die Chromatogramme werden bei 60° C getrocknet, beiderseitig mit Anilinhydrogenphthalat in Butanol[3] besprüht und 10 min auf 105° C erhitzt. Die Flecke werden mit 2,0 ml Essigsäure eluiert und die Extinktion der Lösungen wird bei 480 mμ gemessen.

[1] Biochemic. J. **68**, 704—708 (1958). Torry Res. Stat., Aberdeen (Schottland). — [2] Partridge, S. M.: Biochemic. J. **42**, 328 (1948). — [3] Partridge, S. M.: Nature (London) **164**, 443 (1949); vgl. diese Z. **135**, 209 (1952). Ursula Baumann

Eine einfache mikrotitrimetrische Methode zur genauen Enzymbestimmung durch Konstanthalten des p_H-Wertes beschreiben M. Schwartz und T. C. Myers[1]. Alle Fermentreaktionen, bei denen Wasserstoffionen freiwerden, können grundsätzlich verfolgt werden, indem man die durch die Reaktion entstandene

Säuremenge unter ständiger potentiometrischer Kontrolle des p_H-Wertes durch Zugabe von Basen (0,1 n Natronlauge) neutralisiert. Die hierzu benutzten Apparaturen (Beckman p_H-Meter H-2, Mikrorekordspritze, getrieben durch einen Mikrotitrator der Micrometric Instrument Co., Cleveland) ermöglichen eine Genauigkeit von 0,5% bei 0,04 ml. Die Methode wird an der *Hexokinase* (30° C, p_H 7,5, Gesamtvolumen 4,0 ml, enthaltend 0,02 m Magnesiumchlorid, 0,0025 m Kaliumphosphat, 0,04 m D-Glucose, 0,030 mg Hexokinase und 0,006 bzw. 0,04 m Adenosintriphosphat) und der *Acetylcholinesterase* (37° C, p_H 7,7, Gesamtvolumen 4,0 ml, enthaltend 0,04 m Magnesiumchlorid, 0,0025 m Kaliumphosphat, 0,1 m Natriumchlorid, 0,00373 m Acetylcholin und 0,200 mg Acetylcholinesterase) getestet. Die insgesamt in Freiheit gesetzte Säuremenge differiert um 3 bzw. 2% vom theoretischen Wert. Im übrigen erlaubt die Methode die p_H-Werte der Komponenten in Mengen von 5—10 μMol zu bestimmen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1150—1151 (1958). College Med., Univ. Chicago, Ill. (USA). URSULA BAUMANN

Eine Methode zur Bestimmung von Pepsin im Harn teilt L. K. CHRISTENSEN[1] mit. Das Verfahren beruht auf der spektrophotometrischen Bestimmung des nicht verdauten Anteils vom zugesetzten Eiweiß (Edestin), das mit Trichloressigsäure gefällt, in konz. Harnstofflösung gelöst und bei 280 mμ ausgewertet wird. Da sich Dialyse erübrigt, ist die Methode bei hoher Genauigkeit relativ einfach. — *Ausführung.* In ein bei 5 ml markiertes Zentrifugenglas gibt man 0,25 ml Edestinsubstratlösung (siehe unten) und setzt 5 ml Harnverdünnung (siehe unten) oder Standardpepsinlösung vom p_H-Wert 2,25 (siehe unten) zu; man läßt 2 Std bei 30° C stehen. Bei sehr niedrigen Pepsinwerten muß die Zeit auf 20 Std ausgedehnt werden. Das nicht hydrolysierte Eiweiß fällt man mit 5 ml 10%iger (Gew./Vol.), [0,61 m] Trichloressigsäurelösung, zentrifugiert nach 30 min und dekantiert den Überstand. Den Niederschlag wäscht man mit 5%iger Trichloressigsäurelösung und löst ihn unter Auffüllen bis zur 5 ml-Marke in 35%iger Harnstofflösung (350 g Harnstoff in 0,067 m Sørensen-Phosphatpuffer von p_H 7 lösen und damit zum Liter auffüllen). Das Lösen beschleunigt man durch Rühren mit einem Glasstab. Gegen 35%ige Harnstofflösung mißt man die Extinktion bei 280 mμ. Eine Standardbestimmung, bei der die Trichloressigsäure gleichzeitig mit der Harnverdünnung zugesetzt wird, läuft mit. Aus der Differenz zwischen der Extinktion der Probelösung und der Standardbestimmung läßt sich der Pepsingehalt in μg bestimmen, wenn man eine Eichkurve benutzt, die mit bekannten Pepsinmengen hergestellt worden ist. — Folgende Variationen sind durch Harnverdünnung möglich. *A. für Größenordnungen von 1—20 μg Pepsin.* Verdünnung 1:5 (4 ml *Harn* verdünnt man mit Sørensen-Citratpuffer von p_H 1,65 auf 20 ml oder bei hochgestelltem dunklem Harn 1:10 (2 ml Harn verdünnt man mit Sørensen-Citratpuffer von p_H 1,80 auf 20 ml). Von diesen Verdünnungen gelangen jeweils 5 ml zur 2stündigen Incubation, wobei mit jeder Probe eine Standardbestimmung mitlaufen muß. Die Werte werden einer entsprechend aufgestellten Eichkurve entnommen. *B. für Größenordnungen von 0,1—1 μg Pepsin.* Verdünnung 1:50 (0,2 ml Harn verdünnt man mit Sørensen-Citratpuffer von p_H 2,10 auf 10 ml). Hier incubiert man 5 ml Verdünnung 20 Std lang und läßt für alle Bestimmungen einen gemeinsamen Standardansatz mitlaufen aus 0,25 ml Edestinsubstratlösung + 5 ml vom letzten Puffergemisch (p_H 2,10). Diesem Ansatz (*B*) ist, besonders bei vielen Proben, der Vorzug zu geben. Die Werte entnimmt man einer analog angefertigten Eichkurve. — *Edestinsubstratlösung.* 2,5 g Edestin suspendiert man in 10 ml Wasser, setzt 30 ml 0,1 m Salzsäure zu und erhält eine klare Lösung von p_H 2,25. 20 ml dieser Stammlösung versetzt man mit ungefähr 25 ml Sørensen-Citratpuffer von p_H 2,25, der mit Toluol gesättigt ist. Die

Puffermenge wird so gewählt, daß ein Ansatz aus 0,25 ml dieser Substratlösung + 5 ml Citratpuffer nach Trichloressigsäurefällung und Lösen der Fällung in der Harnstofflösung bei 280 mμ eine Extinktion von 1,00 ergibt. Bei 4° C hält sich die Substratlösung mehrere Monate. — *Standardpepsinlösung.* Lösung von kristallisiertem Pepsin mit 93% Trockensubstanz in Citratpuffer.

[1] Scand. J. clin. Laborat. Invest. **9**, 377—379 (1957). Gentofte Hospital, Kopenhagen (Dänemark). E. Müller, Würzburg

Zur halbquantitativen Bestimmung der Carbonanhydrase, die die Reaktion $CO_2 + OH^- \leftrightharpoons HCO_3^-$ regelt, schlägt E. Cutolo[1] folgende einfache *Methode* vor: Auf einem mit einer 1—2%igen alkoholischen Lösung von Thymolblau imprägnierten Filterblatt bringt man an 2 Punkten *A* und *B* je 5 μl einer 0,1 n Hydrogencarbonatlösung auf. Unmittelbar auf *A* kommen dann 5 μl der Lösung, die zur Verdünnung des Enzyms benutzt worden ist, (und die zweckmäßig eine 0,05%ige Peptonlösung ist); auf *B* werden 5 μl des in geeignetem Maße verdünnten Enzyms aufgebracht. Auf der Filteroberfläche ergibt sich nun ein der Diffusion im Warburg-Apparat vergleichbarer Effekt. Durch die Wirkung des Enzyms wird CO_2 frei, das Reaktionsgleichgewicht wird nach links verschoben, die Lösung wird also stärker alkalisch und der Indicator blau gefärbt. Für die Feststellung des Umschlagspunktes wird eine Lösung verwandt, die man durch Lösen von 60—80 mg Hydrogencarbonat in 2,5 ml 0,1 m K_2HPO_4-Lösung und Auffüllen mit 0,1 m KH_2PO_4-Lösung unter langsamem Rühren auf 10 ml herstellt. Eine Grünfärbung bei ungefähr p_H 7,5 ist zufriedenstellend für den Leerversuch. Zur Beurteilung der enzymatischen Aktivität ist die Carbonanhydrase nach Keilin und Mann[2] hergestellt. Unter Anwendung einer relativ gereinigten Enzymlösung erzeugen 5 μl einer 30 μg Protein/ml mit 0,15% Zink enthaltenden Lösung, die unter den oben genannten Bedingungen geprüft ist, eine Blaufärbung des Blattes entsprechend einem Umschlagspunkt von ungefähr p_H 10. Bei der Blutprüfung werden 5 μl entnommen, mit 0,1 ml dest. Wasser hämolysiert. 5 μl dieser Lösung dienen zu der weiteren Prüfung. Für die Erythrocyten gebraucht man 5 μl einer mit Wasser hämolysierten Probe (1 ml des Sedimentes auf 100 ml Wasser).

[1] Ricerca sci. **27**, 386—388 (1957). Forschungszentrum f. Enzymologie, Rom (Italien). — [2] Biochemic. J. **34**, 1163 (1940). E. Förster

Der Nachweis von Amylase (Diastase), α-Glucosidase und Phosphorylasen im menschlichen Schweiß gelingt H. Wohnlich[1] durch Inkubationsversuche mit Glykogen und nachfolgender papierchromatischer Trennung der entstehenden Spaltprodukte. Die Anwesenheit der *Amylase* wird dadurch bewiesen, daß sich einer der auf dem Chromatogramm (Methanol-Ameisensäure-Wasser, 80:15:5) auftretenden Flecke durch eine weitere Chromatographie mit Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) in 2 Flecke aufspalten läßt, die der Glucose und Maltose zugeordnet werden müssen. Das Auftreten von Glucose bei Zusatz von Maltose bei der Inkubation beweist das Vorhandensein einer *α-Glucosidase.* Die im Butanol-Eisessig-Wasser-Chromatogramm (siehe oben) außerdem auftretenden Flecke könnten von Glucose- oder Fructose-Phosphorsäuren herrühren. Nach Hydrolyse (Elution mit Wasser, 2 Std mit 8 n Salzsäure hydrolysieren) und erneuter Chromatographie lassen sich Glucose, Fructose und Phosphorsäure nachweisen. Damit wird die Anwesenheit einer *Phosphorylase* im Schweiß wahrscheinlich. Diabetikerschweiß wirkt stärker spaltend als normaler. Der Schweiß enthält 3—4 mg-% Phosphorsäure. Diese Konzentration entspricht der des Blutes.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **308**, 197—203 (1957). Oberaudorf/Inn.
Ursula Baumann